

計畫編號：DOH100-DC-1022

行政院衛生署疾病管制局 100 年度科技研究發展計畫

結核病防治診斷治療暨政策評估研究計畫

研究報告

執行機構：財團法人生技醫療科技政策研究中心

計畫主持人：陳維昭 特聘研究員

協同主持人：彭汪嘉康特聘研究員、楊泮池特聘研究員、

胡幼圃特聘研究員、蘇維鈞特聘研究員

執行期間：100 年 02 月 01 日至 100 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

壹、前言	13
貳、材料與方法	27
參、結果與討論	38
肆、結論與建議	59
伍、計畫重要研究成果及具體建議	71
陸、參考文獻	81

中文摘要

本整合型研發計畫總目標，以建置結核病完整資料庫、開發快速診斷工具及低毒性抗結核處方、了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之發生率、抗藥性相關因素、困難個案就醫困境及抗結核藥物副作用之處理為主要方針，並延續與整合本研發團隊過去四年在相關領域累積的研發成果與研究資源，期許能協助行政院衛生署達成「結核病十年減半全民動員計畫」之目標。

本計畫共有超過 68 位專家學者及 80 位博碩士與研究人員一同參與研究團隊，目前已有 13 篇學術論文接受刊登及數篇正在申請中、並有超過 15 篇研究成果於國內、外相關結核病年會中進行發表、1 項四合一抗結核藥物藥證申請中、3 項(台灣、美國與中國)專利申請，同時亦包括 3 篇技術報告及著作之出刊。茲就計畫四大研究主題重點成果分述如下：

(一)在建置結核病完整資料庫及分析應用部分，集結過去五年間共建置約 2,000 位結核病患完整的臨床資料、細菌學、影像學及治療過程，藉由電子化統一收案資料彙整流程，並針對台灣地區結核病完治率無法提高重要原因-藥物治療副作用之宿主基因多型性與宿主 innate immunity 對預後的影響進行分析，研究結果顯示，*N-acetyltransferase* 與藥物性肝炎的發生有關，但 *Cytochrome P450 2E1* 則與藥物性肝炎的發生無關。而結核藥物治療過程中副作用相當常見，其中最多的是皮膚症狀，超過四分之一的人會發生，其次腸胃不適，大約六分之一，若依據美國胸腔科醫學會與感染症醫學會的診治指引之定義，有 10.3% 的患者發生藥物性肝炎，同時針對周邊血液單核球細胞表面 TLR2 的表現量分析，顯示其 *Toll-like Receptor 2* 與結核病人治療後存活有關，對此可深入研究結核病之基礎與強化對疫情及預後作最有效的管理。

(二)研發結核病診斷工具與降低藥物副作用部分，研究團隊開發出運用免疫磁檢量及核酸質譜儀檢測技術兩套，並準備進入平台套組測試與優化階段，同時亦完成 220 例做為測試群組所進行之驗證測試，除能成功建立偵測第一線及二線用藥抗性相關基因突變之質譜儀探針，並能定量最低偵測靈敏度為小於十拷貝數，同時在免疫磁減量操作平台方面之突破-僅需加入樣本，即能從儀器得到讀值，大幅減少操作所需人力、時間，且最低偵測極限為 10pg/ml，相較於 QuantiFERON 的最低偵測極限 75pg/ml 來的更為靈敏；而在低副作用抗結核藥物研發，研究團隊所研發之「抗結核病四合一複方製劑」目前已提出新藥查驗登記申請，且已解決 rifampicin 之溶離問題和 40 人次之人體試驗評估，同時亦發現對使用含 INH 藥物之病人，可針對高肝副作用風險之代表性基因組合 rs1961456 及 rs1799931 預先篩檢，有效降低高風險基因型對肝副作用發生之機率；再結合所開發出低副

作用之 INH 劑型與無肝副作用之 PZA 製劑，依研究結果顯示同時併用 360 mg 之 HUCHE033 及 110 mg 之 HUCHE010，並不會影響 INH 原型藥之吸收並可抑制 amidase 使得其毒性代謝物減少，藉以開發出合適國人之新劑型、低副作用抗結核藥物處方，有效改善治療品質、提高服藥之順從性與完治率

(三) 了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子研究中，經由目前已累積超過 2500 位家庭接觸者、密切接觸者及高危險族群之篩檢。本研究發現 HIV 病毒感染病患之潛伏性結核菌感染在的比例約為 6.8%，而長期洗腎透析之患者其潛伏性結核感染的盛行率為 18.5%，且不論血液透析與腹膜透析模式其陽性率相似；同時對於第二型糖尿病人潛伏結核感染之比率為 29.5%，其主要危險因子為糖尿病患年齡(超過 55 歲)與其發病之年齡，另針對肺癌病患之潛伏結核感染發現之比例可高達近 40%，其臨床危險因子包括年齡、男性、抽煙史、過去結核病治療史與未接受卡介苗注射等皆是，故對於高危險族群之篩檢年齡上，建議可定期監控高危險族群病患並優先針對年紀大於 50 歲以上病患作 QFT-GIT 篩檢，有效提高公共衛生的資源利用效益。

(四) 探討結核病抗藥性之相關臨床因素及困難個案診治部份，本研究團隊發現 PZA 藥物的延長使用並不影響其痰液陰轉速度，而 PZA 的延長使用對於兩年內是否復發而言，也沒有顯著差異，且依據目前研究應證 Linezolid 可短期降低結核菌數。此外，研究團隊亦發現重度肺結核個案治療成效及復發狀況之關鍵因素與危險之因子為性別、教育程度、是否吸菸、是否喝酒、是否罹患高血壓、糖尿病者皆呈高度相關；亦針對用藥組合是否符合標準處方研究結果顯示-中央傳染病追蹤管理系統資料庫大約有三成不符合標準處方。另亦針對花蓮縣山地鄉進行公衛、醫療、檢驗三大網絡之加強、及早介入措施和高品質接觸者篩檢，不但早期發現病患比率可高達 1.28%，亦証實了接觸者檢查的重要性，而經本團隊研究指出台灣地區於治療成功後復發或治療後失落再治的結核患者可達 32%，而於治療失敗後再治結核患者可達 49%，其 MDR-TB 之比率遠低於世界衛生組織的監測數據。

綜上，期能藉由本研究團隊之全方位努力衝刺，能夠讓台灣的結核病疫情達到十年減半。

關鍵字：結核病防治、研發、整合、診斷、治療

結核病防治整合型計畫 期末成果彙整表

計畫名稱	計畫主持人	成 果
計畫主題一：建置結核病完整資料庫及分析應用		
建置結核病完整資料庫	陳維昭	<ol style="list-style-type: none"> 1. 藉由電子化資料庫的設計，建立統一收案登錄頁面，以利個案資料彙整查詢。資料庫的建置。目前在各執行醫院中均已完成。 2. 本年度預計納入結核病人及家屬共 400 人，目前實際納入超過 401 人，且自 2007 年起至今已建置約 2,000 位結核病患完整的臨床資料、細菌學、影像學及治療過程收集的檢體數目。 3. 由於藥物治療過程中的副作用，是目前台灣地區結核病完治率無法提高的一個重要原因。因此，對於宿主基因多型性的分析，目前選擇與藥物代謝相關的基因進一步研究，希望能對抗結核藥物副作用的危險因子有更深入的了解。 4. 陸續針對結核病診治上重要的議題，利用所建構的資料庫資源，逐步開始進一步的分析研究。
計畫主題二：研發結核病診斷工具與低副作用藥物		
應用核酸質譜儀與免疫磁檢量技術發展快速偵測結核桿菌及抗藥性之新技術	俞松良 (核酸質譜儀偵測系統)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 成功設計結核分枝桿菌、非結核分支桿菌及其抗藥相關基因(<i>rpoB</i>)突變特異性引子與探針，且經測試皆具高度特異性。 2. 成功設計與第一線用藥及第二線用藥抗性相關基因突變之質譜儀偵測探針。 3. 成功建立核酸質譜儀鑑定結核分支桿菌，並定量出最低偵測靈敏度為小於十拷貝數。 4. 成功由臨床病人培養出結核菌株中鑑定出抗藥基因突變。
	蘇維鈞 (免疫磁減量偵測套組開發)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 結核病偵測標的選定：針對 <i>M. tuberculosis</i> H37RV 抗原區(<i>esat6</i> 和 <i>lhp</i>)所選殖的片段，單獨的 <i>lhp</i> 與 <i>esat6/lhp</i> 能正確的在 pET28 表現系統中表現，而單獨 <i>esat6</i> 卻不行。實驗中 IPTG 誘導 ESAT6 表現的過程中，會影響到 <i>E. coli</i> BL21 的生長，使破菌後無法取得足夠濃度的蛋白，而 ESAT6/CFP10 重組蛋白則不會產生影響，若想純化 ESAT6 需要更換一個不受 ESAT6 影響的表現系統。

計畫名稱	計畫主持人	成 果
		2. 重組蛋白多株抗體檢測套組與重組蛋白誘導之 IFN-r 套組建構。
開發抗結核複方製劑及應用代謝酵素抑制研製低肝毒性之 Isoniazid、Rifampicin、Pyrazinamide 抗結核藥物	鮑力恒	<ol style="list-style-type: none"> 1. 新穎四合一抗結核藥物開發，本年度已解決四合一複方製劑中 rifampicin 之溶離問題，並進行動物試驗評估(約 40 人次之人體試驗)，本實驗室已與國內符合 PIC/S 藥廠合作研發複方四合一抗結核病藥物雙層錠的處方研發及試製。利用雙層錠來解決 Rifampicin 在合併製劑中的 Bioavailability (BA) 下降及 Isoniazid 與 Ethambutol 之合併製劑容易吸濕受潮的問題。各試製處方均以 WHO 建議劑量 (pyrazinamide 400 mg·rifampicin 150 mg·isoniazid 75 mg 和 ethambutol hydrochloride 275 mg) 進行四合一雙層錠試製。 2. 開發無肝副作用之 isoniazid(INH)製劑，以開發出低副作用之 INH 劑型於健康受試者進行人體試驗藥動學之評估，結果顯示同時併用 360 mg 之 HUCHE033 及 110 mg 之 HUCHE010，並不會影響 INH 原型藥之吸收，但在體內可能有抑制 amidase 使得其毒性代謝物減少，並有加乘的作用；另單獨或同時併用 360 mg 之 HUCHE033 或 110 mg 之 HUCHE010 對 chlorzoxazone(CZX)及其經 CYP2E1 之代謝物 6-OH CZX 血中濃度及各項藥動學參數影響皆不顯著。未來在持續進行無肝副作用 isoniazid 臨床試驗時，此處方為目前最佳的選擇。 3. 開發無肝副作用之 PZA 製劑：併服 HUCHE033 對 PZA 於健康受試者體內的藥物動力學影響並不顯著，但能有效降低 PZA 毒性代謝物 5-OH-PA(抑制率約 39%)；另亦進行分析 167 位 TB 患者基因檢體，完成 5 種 XO SNP 不同基因型與 PZA 藥物肝毒性風險試驗，結果顯示具 rs1884725 與 rs2295475 突變型對偶基因患者較野生型具較高 PZA 肝毒性風險(Odds ratio 各是 5.372 (p = 0.002)、12.964 (p = 0.000)，這是目前文獻未提及之新發現。 4. 以代謝酵素基因型預防 isoniazid 及 rifampin 之副作用發生之研究，以前瞻性試驗的方式，將新接受治療之結核病患者納入追蹤觀察，以驗證高風險基因型預測肝副作用發生率之情形。結果顯示對使用含 INH 藥物之病人，應篩檢高肝副作用風險之代表性基因組合 rs1961456 及 rs1799931，若確定結核病患屬高肝副作用風險病患則應密切觀察其肝功能變

計畫名稱	計畫主持人	成 果
利用奈米科技研發新劑型抗結核藥物	周正中	<p>化。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 高達 95%的巨噬細胞能有效地吞噬 SiO₂ 和中孔洞 SiO₂ 奈米粒子進入細胞質內，即使在 1 mg/ml 高濃度下對於巨噬細胞仍不具毒性。SiO₂ 和中孔洞 SiO₂ 奈米藥物的[胞內/胞外]的INH吸收比值比 free INH 分別高出 133 和 14 倍。 2. 成功地以亞胺鍵結將 INH 稼接在 SiO₂ 奈米粒子表面。並完成 OSAP 包覆 INH 奈米化藥物的製備，但發現 OSAP 的包覆未如預期地增加 SiO₂ 奈米粒子對巨噬細胞的吸收度。 3. 以亞胺鍵結的INH奈米藥物在酸性環境中(pH = 2)瞬間斷裂，大約60%稼接的INH被釋出於PBS溶液中。 4. 高達95%的巨噬細胞能有效地吞噬SiO₂奈米粒子進入細胞質內，即使在1 mg/ml高濃度下對於巨噬細胞仍不具毒性。 5. SiO₂奈米藥物的[胞內/胞外]的INH吸收比值比free INH高出2.3。 6. 我們額外地使用物理吸附原理將INH吸附在中孔洞(mesoporous)SiO₂奈米粒子的孔洞內，發現高達95%的巨噬細胞能有效地吞噬中孔洞SiO₂奈米粒子進入細胞質內，即使在1 mg/ml高濃度下對於巨噬細胞仍不具毒性。令人驚訝的是中孔洞SiO₂奈米藥物的[胞內/胞外]的INH吸收比值比free INH高出27.8倍。
建立增強 <i>SPI10</i> 基因所調控的免疫力之藥物篩選平台	顏伯勳	<ol style="list-style-type: none"> 1. 建立化合物庫：本計畫已建立一個包含化療用藥及中草藥等約六百個化合物的化合物庫供篩選 2. 建立高通量細胞影像分析系統的篩選平台：已建立一個由表現 <i>SPI10</i> 基因的細胞模式，由台大醫學院基因體醫學研究中心之細胞影像分析系統 ImageXpress Micro 為平台來高通量篩選增強 <i>SPI10</i> 基因所調控的免疫力之化合物 3. 活體外細胞感染測試：已在台大醫學院 BSL-3 實驗室建立活體外細胞感染結核分枝桿菌的系統，可供上述所篩選出的化合物進行活體外細胞感染測試 4. 增強宿主細胞免疫力之分子標的化合物的篩選：為建立化合物庫，本計畫已回溶與分裝約 600 個化合物做為初步篩選檢測的化合物庫。並將每 80 個化合物配置於一個 96 孔盤以進行後續的高通量細胞影像分析系統測試。為了優化篩選條件，我們分別測試不同時間及不同濃度多西環素處理後，綠

計畫名稱	計畫主持人	成 果
		色螢光的殘餘強度。此外，並分別以干擾素 gamma、cisplatin 及 doxorubicin 來處理細胞使得細胞產生死亡，以進行細胞死亡測試條件的優化。
計畫主題三：了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子		
比較兩種預防性治療處方對於結核病家庭接觸者、密切接觸者的預防成效	王振源	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本研究家庭以及密切接觸者陽性率約為三分之一，應該努力篩檢並進一部給予預防性治療，以降低日後的發病率。 2. TST 與 QFT-GIT 有很高的相關性，但 TST 的偽陽性較高，導致單用 TST 進行篩檢成本效益較低。建議應藉由 QFT-GIT 的高特异性進一步確定潛伏結核感染，以提高公共衛生的資源利用效益。 3. 目前國內針對密切接觸者檢查採用胸部 X 光及皮膚結核菌素試驗，在尚未發展出潛伏結核感染之黃金診斷標準以前，建議可暫時將丙型干擾素釋放法列為密切接觸者結核感染篩檢項目之一。 4. 具有意義之 Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性危險因子為接觸過的結核病患人數。 5. 建議衛生單位建立全國密切接觸者管理系統，每半年至一年需督促結核病接觸者做胸部 X 光檢查，以利日後定期追蹤。
結核病高危險族群，包括醫護人員、愛滋病毒感染病患、慢性呼吸衰竭病患、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物（anti-tumor necrosis factor blockade）治療之自體免疫疾病患者、血液及腹膜透析病人、長期照護機構、第二型糖尿病患者、以及肺癌病人之潛伏結核感染追蹤調查	王振泰	<ol style="list-style-type: none"> 1. 至 100 年 12 月止共計收案 1786 人(原先預計 1470 人)，已符合預期目標。重要成果如第 2 項所列，共有 345 名受試者之丙型干擾素釋放試劑檢測呈陽性；而截至目前為止，這 345 名受試者中，並沒有被發現出現活動性結核病的人。 2. 其中共包括愛滋病毒感染病患 210 人、慢性呼吸衰竭病患 115 人、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療之自體免疫患者 167 人、血液及腹膜透析病人 234 人、第二型糖尿病患者 342 人、北台灣呼吸照護病房之住民與工作人員 162 人、長期照護機構與榮民之家 301 人、使用抗癌藥物治療前之肺癌病人 79 人、醫護人員 176 人。 3. 由本研究計畫之橫斷面篩檢發現，丙型干擾素釋放試劑檢測陽性率較高的族群為在呼吸照護中心及呼吸照護病房的住民與工作人員、肺癌患者、糖尿病患者以及慢性腎衰竭接受透析治療的病患。而最低

計畫名稱	計畫主持人	成 果
		<p>的則是急性照護醫院的工作人員。從這樣的結果來看，推測我國未來結核病防治的另一工作重點在於罹患慢性肺病之患者與照護其之醫護人員應是合理的。</p> <p>4. 在 345 位丙型干擾素釋放試劑檢測呈陽性的受試者中，並沒有任何一人出現 active tuberculosis 之症狀。在推展 LTBI 治療的時空背景下，其實這一方面的流行病學資料是十分重要的。倘若這 345 受試者在後續之追蹤中，並沒有人或是很低比例的人出現 active TB，那利用丙型干擾素釋放試劑檢測 latent TB 並以遂行 latent TB 治療的政策，可能就需要再行審慎考慮。因此，研究者呼籲應將這樣的研究計畫至少連續進行三年，才能有較好的結論。</p>
計畫主題四：探討結核病抗藥性及多重抗藥性之相關臨床因素及困難個案診治		
<p>抗結核藥物肝傷害的生物標記及療程中發生肝炎患者之不同加藥流程的成效比較，並進一步針對肝硬化病患之二線抗結核藥治療處方探討</p>	<p>李麗娜</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本計畫之第一部分初步研究結果顯示，發生抗結核治療中肝炎時，血中的細胞激素 IL-10、MCP-1、TNF-α 之上升與肝指數之上升較平行，IL-6、IL-17、IFN-γ 之上升與肝指數之上升較不平行，但仍須研究更多病例才能得到結論。至於藥物代謝基因 pregnane、CYP1A1 基因多型性與抗結核治療肝傷害之間的關係，亦需作更多病例之研究。 2. 本計畫共篩檢 3642 人次之肝功能。其中肝發炎指數異常者共有 145 人(4%)，符合收案及排除條件後，共有 82 位納入研究，然而，43 位病患因為抗藥性肺結核，22 位病患拒絕簽署同意書，之第二部分初步研究結果顯示，從 2011 年 4 月至 10 月，共有 17 位病人納入研究分析。經過隨機分派，9 位分配於標準加藥組，8 位分配於緩慢加藥組。重新給予 INH+RMP 成功有 11 位 (64.7%)，於標準加藥組及緩慢加藥組中，分別有 6 位及 5 位上藥成功(66.7% vs 62.5%, p=1.00)。共有 6 位病患(標準加藥組及緩慢加藥組各 3 位)接受重新給予 PZA，不論標準加藥組或緩慢加藥組，皆僅 1 位(33.3% vs 33.3%,p=1.00) 患者成功重新給予 PZA。 3. 於 100 年 1 月 1 日至 12 月 10 日為止，主動篩選本院通報 TB 患者為 281 位，在過程中，發現肝功能

計畫名稱	計畫主持人	成 果
		<p>不佳者為 130 位，為了提高收案率，因此增加安排腹部超音波檢查。在此嚴密篩選下，已不易在原收案條件下增加收案數。而部分早期肝硬化病人，可能肝功能指數(AST/ALT)及膽紅素皆正常，當接受抗結核藥物治療後，肝功能惡化才表現出來，故建議早期安排腹部超音波檢查。此外，治療後肝功能異常者，需常規以腹部超音波篩檢慢性肝病。即便是符合收案條件，但常因病情嚴重而無法用藥，導致即使收案卻仍無法順利完治。綜上，肝硬化病患(Child A to C) 有極高肝毒性風險，是否有必要經由一線藥物標準處方治療，徒增風險，有待進一步研究。且此族群案例不多，或許在擬定診治指引時，將選用部分二線藥之處方列入考慮。由於肝硬化合併結核病的臨床案例數未如預期，且根據本研究在篩選案例中，肝功能異常 GOT/GPT 五倍以上異常的患者共有 16 位；三倍以上異常患者有 5 位；黃疸指數異常但肝功能正常者有 19 位；其中在尚未服用抗結核藥物即肝功能異常者為 23 位。不符合肝硬化診斷病人中，因用藥後肝功能異常，經停藥-再試藥過程，仍無法使用一線藥，到最後仍須使用二線藥人數 9 例，超過 10%。</p>
<p>重度肺結核與複雜性多重抗藥性肺結核之治療策略及影響臨床治療成效因素</p>	<p>黃伊文</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 重度肺結核：本研究發現罹病的嚴重度在個人基本資料方面與性別、教育程度、是否吸菸、是否喝酒、本身罹患糖尿病者呈高度相關，而教育程度、是否吸菸及 x 光片嚴重程度依然是影響其陰轉速度的主要原因。本次研究亦發現 PZA 是否延長使用均對痰液抹片陰轉天數、痰液培養陰轉天數、完治與否及是否於兩年內復發，兩組間皆無明顯差異。 2. 複雜性多重抗藥性結核病：九位收案個案中至 2011 年十月中仍有六位繼續在治療中，九位個案使用 Linezolid 後發生副作用的比例約為 66%，主要為輕到中度貧血、頭暈、血小板低下、視力模糊及手腳麻木的症狀。儘管如此，只有一位整個停用 Linezolid。本研究四位由陽轉陰的個案，陰轉時間平均約為 1.7 個月，這顯示即使是使用一天一次 600mg 以內的 Linezolid 還是一樣有良好效果，也

計畫名稱	計畫主持人	成 果
		同時應證能減輕藥物毒性使在可控制範圍內。
「不良結核病醫療處方及早介入改善措施模式」之建立與評估	邱尚志	<ol style="list-style-type: none"> 1. 臨床實務方面的成果：定義結核病治療異常處方、瞭解國內異常處方的現況，分為兩部分，一為中部異常處方，源自中央傳染病追蹤系統資料庫，二為2008年健保資料庫結核病新案，並建構異常處方自動篩檢回饋系統。 2. 若此一模式建立之後，將推廣至其他分局與縣市，希望能提升病患的治療與預後，及早發現不良結核病醫療處方，透過雙向溝通，提升病患的治療與預後。希望能藉由本計畫的實施，改善結核病不良處方的比率，並檢討不良處方可能之影響因子，提出改善計畫，希望能對結核病防治工作提供相關建議，減少結核病在台灣存在之威脅。
東台灣的結核病防治計畫	李仁智	<ol style="list-style-type: none"> 1. 加強山地鄉結核病防治：花蓮縣山地鄉結核病的發生率依然很高（大於400/100000），接觸者檢查可以發現不少病人（1.28%）。實驗室通報可以早期發現結核病病人。 2. 多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測：東台灣地區多重抗藥結核病患的接觸者潛伏性感染高達五成以上。 3. 再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析：本計畫著重於東台灣肺結核再治之流行病學調查，此為本地區首次進行之相關研究。
結核病國際研究交流與合作	總計畫辦公室	<p>生策中心於2011年3月23日邀請澳洲百年研究所-Dr. Nick West 演講與交流會議，針對治療結核病最新的疫苗設計與藥物研發討論，此會議邀請本研究團隊PI及該研究領域之專業人士共同參與，並簽署生策中心與澳洲百年研究所學術合作備忘錄(MOU)。此國際性研究交流活動亦受工商日報、經濟日報及聯合新聞網等新聞媒體揭露。</p>

Abstract

Keywords: Tuberculosis, TB prevention, Drug development, latent, treatment, diagnosis

The overall objectives of this project are to establish a comprehensive databank of tuberculosis, develop rapid diagnostic techniques, and investigate the disease model, onset mechanism and drug resistance and the international collaboration. Additionally, this program continues and integrates our previous research achievements and resources on the areas of the detection, diagnosis and databank of tuberculosis, drug development and clinical therapy. Our ultimate expectation is to assist the Department of Health to accomplish the goal of cutting the number of tuberculosis cases in half by 2016.

There are five subprojects in the areas of the establishment of comprehensive databank of tuberculosis, research and development of diagnostic techniques, investigation of disease model and onset mechanism, investigation of drug resistance, and international collaboration between Taiwan and China, lead by a research team consists of experts in the areas of clinical, medical and pharmacy sciences and public health.

1. Establishment of comprehensive databank of tuberculosis: the focus of this subproject is to extend the databank established in the past three years for the comprehensive clinical responses of tuberculosis patients and their contacts; we will further detect and investigate the probability and risk factors for the recurrence and reinfection. The goal of this subproject is to provide reference and supports for the establishment and implementation of government policies for tuberculosis prevention.
2. Research and development of diagnostic techniques: "the test kit with high sensitivity" and "the diagnostic technique of drug resistance molecule" developed are in the process of commercialization. We also plan to utilize DNA mass spectrometry and magnetic reduction to develop rapid, sensitive, specific, and low cost high throughput techniques for the efficient detection of the latent and drug resistant tuberculosis. Moreover, based on the past research achievements we will further develop innovative new antituberculosis drugs with low side effects to effectively improve the quality of therapy, enhance the convenience of usage, success rate of treatment and reduce drug resistance.
3. Investigation of disease model and onset mechanism: our research team has built experiences on the model of preventive therapy for contacts and new prescriptions. We will further establish standardized investigation, monitor and treatment models for contact and the analysis of contact exclusion related factors, to control the occurrence of active tuberculosis through latent infection, establish related prevention and early treatment models and to effectively control the risk and scale of disease transmission in high risk population.
4. Investigation of drug resistance: we will continue to investigate the mechanism of drug-induced Hepatitis, especially in the areas of mountain community, bad prescriptions and difficult cases, to propose strategies for quality improvements of diagnosis, reduction of drug resistance and treatment and reduction of mortality.
5. International collaboration between Taiwan and China: with the consideration of high impact of tuberculosis in China, we will focus the establishment of research collaboration platform with key institutes for tuberculosis prevention in China. The focus in the early stage is to control the prevention trend in China and establish the collaboration model of

tuberculosis prevention, the standards of databank, and the collaboration on the drug and innovative diagnostic techniques, to resolve the problems in tuberculosis in Chinese population.

This is an application development directed project and the goals are to improve and overcome problems in clinical treatment, therapy quality and prescription for tuberculosis. The results of this project will provide an understanding in the disease model and onset mechanism of tuberculosis, facilitation of early diagnosis, detection, prevention and treatment and the establishment of government policies for the high impact of tuberculosis in China. Our ultimate expectations are to accomplish the goal of cutting the number of tuberculosis cases in half by 2016.

壹、前言

一、背景與現況

世界網絡交流頻繁，國與國之間的平台不再遙遠，加劇全球面臨結核病流行之威脅。根據WHO(World Health Organization)指出，全球約有二十億人已感染結核桿菌，占全球三分之一人口數，在2007年時，全球約有九百萬新病患，且結核病的病人數占全球所有患病數的2.5%；同時，以病患數統計而言，亞洲是全球疫情最嚴重的地區，每年約有五百萬新病患，占全球的半數以上。在2007年，全球約有一百七十萬人死於結核病，每天約有近五千人死於結核病。其中5-10%終其一生可能會再度發病或成為潛在發病原；若不經治療，每位開放性肺結核病患將可傳染給10-15人。目前為止，全球結核病發生率每年以2 %的比例增加，且每秒鐘就有一人新感染結核桿菌。總體而言，雖然結核病為可治癒之疾病，甚至大規模接種卡介苗及抗結核藥物之發展，但其仍是全球成人因感染症死亡的首要原因。

有鑒於結核病的疫情仍然在全球各地蔓延，由1971年開始，美國胸腔科醫學會(American Thoracic Society, ATS)和疾病管制局(Centers for Disease Control and Prevention)就定期開會討論，希望能夠制定結核病診斷、治療、和防疫措施之標準指引，以期能夠在公共衛生政策的擬定和結核病患的診治上提供參考。結核病之流行不僅與傳染動力學有關，不同國家間亦存有極大差異，並直接影響到結核病的防治策略。根據世界衛生組織的估計，從2000年到2009年這十年之中，全世界大約會有三億人口被結核菌感染，大約會有三千萬人口死於結核病。在開發中國家，結核病的威脅更加嚴重，結核病人數占了全球結核病人數的95%，死亡數則占了全球死亡數的99%。開發中國家75%的結核病人屬於15歲到54歲的生產年齡人口，得病之後造成一連串的社會問題，嚴重耗損了社會及經濟的活力。結核病依其流行率可區分為高盛行(high-prevalent)地區，例如第三世界國家(結核病發生率約在每十萬人口75至500以上)，與低盛行(low-prevalent)地區，例如美國、加拿大(結核病發生率約在每十萬人口6-7之間)等西方已開發國家。在1997年全球新發生結核病例數約800萬人，較1990年增加了5.6%，而其中增加病例最多的地區是在非洲，相形之下，美洲地區的病例卻大幅減少，在1997年全球新發生結核病例當中，有40%和25%分別發生在東南亞和西太平洋地區。此外，各國的結核病流行狀況差異頗大，80%的新發生結核病例集中在發生率最高的22國家，其發生率範圍從每十萬人口75人至每十萬人口539人(Raviglione et al., 1995; Dye et al., 1999)。

雖然由上述的世界結核病遍佈趨勢來看，結核病大多發生於發展中的貧窮國家，然我國結核病的傳染每年仍有約一萬三千名的新發個案，在38種報告傳染病中，結核病的病人數即約占了70%，是目前病人數最多的應報告傳染病，比所有其他傳染病的總和還多。研究報告發現，臺灣地區結核病發生率趨勢在1991-1992年略昇，1992-1995年平緩，1996年後則顯著上升。以1996年和1995年比較，發生率上升了16%，結核病發生率隨年齡增加，尤其在50歲以後，男性結核病發生率約為女性的2倍。2004年經通報之結核病個案計24,161人，經確診為結核病新案者高達17,142位，為自1999年以來最高。而結核病死亡人數每年約1,000多名，2003年死亡人數1,309人，2004年亦有957人，名列我國死因順位第13，死亡率達每十萬人口4.23人。由上可見，我國結核病的疫情有逐年提升的趨勢，是我國國民健康的重大威脅，且相較於先進國家，我國在結核病的控制上仍有數十年的差距，顯現我國結核病的防治工作急須加強改善與革新。

目前國際間正努力進行結核病十年減半計畫，希望在2015年全世界的結核病盛行率能減少一半，台灣身為世界的一員，我們也相當努力的進行結核病防治。疾病管制局也於2006年，正式提出了十年減半的計畫，希望每年投入相當的經費，來達到此一目標。而為了達到此一目標，必須符合兩大條件，就是完治率必須達到85%以上，新發現的結核病患痰抹片或培養陽性的病患必須達到70%，主要的策略為發現病患，治療病患。如何早期發現結核病患，進一步早期治療是目前結核防疫相當重要的課題。而目前將邁入2010年，進入關建的第五年，目前新增的個案數雖有下降，但仍需持續努力，除都治之外，還需其他的措施來加強結核病的防治。

目前我國結核病防治問題與臨床困境，分項敘述如下：

(一)再治病患之追蹤監控部份

1.疫情與個案監測須強化

為確保結核病防治目標的達成，因而研擬更精進的預防政策並結合社會各領域資源，以建構詳盡的結核病資料庫（包含個案臨床表現、診斷、治療反應、菌株、基因型等資訊），並將資料庫平台與管理措施標準化，強化結核病個案的偵測與疫情監測，提高結核病的診察率及完治率，並提升資料庫參數之品質是防治、研究與監測結核病的重要基礎，以利進一步研究分析、追蹤與監控復發及再感染情況之探討。由於宿主的免疫系統與病原菌的各種生理、化學特性經交互作用，造成了結核病複雜多樣的臨床表現與療程反應。試圖深入了解國人結核病，研究各種臨床表現之特異性與致病機轉的第一步，必須要有具高品質及整合性的結核病資料庫(databank & clinical bioinformatics)。建立完整的結核病資料庫，含括病患的完整基本資料、過去病史、家族史、可能暴露地點、暴露時間、發病時

間、症狀、影像學檢查、臨床檢驗、結核菌檢查、菌株基因型、療程經過與治療反應、以及抗結核藥物的各種副作用，並妥善保存病人臨床分離之菌株與週邊血液以供日後進一步研究。此外，於 2008 年 3 月，台灣疾病管制局約登記了 412 位多重抗藥結核病患者 (MDR-TB)，而其中 77 位 (18.6%) 是東台灣居民，然而台灣東部地區的人口卻僅佔台灣總人口的 2%。因此，於結核病相對盛行之東台灣地區，針對再治之肺結核病患，進行個案復發與再感染情況及結核菌株發展出抗藥性等相關研究，對於肺結核的整體防治工作上，實屬必要。

(二)、診斷技術與藥物方面

1.結核、潛伏結核感染之診斷效果未盡理想

正確、快速的檢驗與診斷乃掌握根治傳染病「早期診斷、早期治療」的首要關鍵，對於發病的結核病個案，傳統的診斷方式，包括症狀學、肺部影像學與實驗室檢查，其中唯有實驗室檢查中確定出結核菌才能確認結核病。痰塗片鏡檢和培養是結核病診斷的基本的和標準的方法。培養的敏感度為 80-85%，特異度為 98%。由於檢體的耐酸性染色檢查較快速，但敏感度低。而耐酸菌培養敏感度較高，但耗時較久，對急需確診的醫師與病人均極為不便 (趙守典，2005)。且傳統上採用的培養方式約需要 4-8 週才有結果。採用自動偵測結核菌液態快速培養系統可提早到約兩週可分離出結核菌。然而就算培養呈陽性時，該標本的培養液仍必須再進行塗片耐酸性染色鏡檢，確定是耐酸菌後方可發出陽性報告。如此的檢驗步驟，表示病患被確認為結核感染前，可能會有兩週以上的時間無法接受抗結核藥物的治療，而造成治療的空窗期。

因此，在檢驗與診斷的部分尚面臨諸多問題待解決：故有別於傳統方法，許多血清免疫學相關的診斷方式，針對結核菌引起的生物標記 (biomarker) 改變來鑑定，包括：干擾素- γ (IFN- γ) 等，然而，因為敏感度與特異性的限制，常須多種生物標記結合才能有效辨識。近年來，因結核菌全基因體的定序完成，使得結核菌的檢測進入了分子診斷的領域，包含辨別結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌外，對於結核菌的抗藥性亦可快速檢測。這些分子診斷方式包含了：核酸複製放大 (NAA, Nucleic Acid Amplification) 測試：目前已有許多的文獻報導，利用聚合酶鏈鎖反應，針對結核分枝桿菌特異性高度保留區的片段放大鑑定。然而，除了敏感度、特異性與耗時的考量外，成本以及輸出量更是實驗診斷上的顧慮。

有鑑於此，本計畫擬利用基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜儀 (MALDI-TOF MS, matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry) 建立新穎性結核菌偵測平台，此類核酸質譜儀已廣泛應用於許多領域，包函單一核苷酸多型性 (SNP, single nucleotide polymorphism)

變異偵測、定序以及微生物鑑定等，其高敏感度最少可以偵測十個拷貝數之菌量，此平台的建立除可辨識結核分枝桿菌以及非結核分枝桿菌外，同時也可以鑑定結核抗藥菌株。對於單一檢體，配合適當的引子及探針設計，可以在單一試管中完成各種鑑定最高達三十六種。預計將提供快速診斷策略以為臨床投藥指引，並建立結核病人個人化醫療系統。

國際上對於潛伏感染個案的診斷都依賴結核菌素皮膚測驗(Tuberculin skin test, TST)，然而在臺灣，因為長期實施卡介苗施打政策，加上過去高結核盛行率（50 年前的 20 多歲年輕人，有 80%TST 為陽性），使得利用 TST 來診斷潛伏結核感染在臺灣窒礙難行。因此有必要對這些潛伏感染個案建立可行確診的工具及策略，也就是研發可提升檢驗結果準確度，亦能縮短檢測所需的時間的診斷工具，如運用分子檢驗技術（如聚合連鎖反應-polymerase chain reaction, PCR、核酸切割片段多樣性鑑識法-restriction fragment length polymorphisms, RFLP 及快速藥物敏感試驗等方法）、丙型干擾素分析法（Interferon-assay）、抗原 60 免疫球蛋白（Antigen 60 Immunoglobulin G）等，目前已有不少研究致力於此，然由於儀器之試劑之成本大多昂貴，且亦有其限制，如 PCR 過度靈敏，易遭受污染產生偽陽性，且死菌內的 DNA 亦會被檢測出來，故如何與培養、耐酸菌染色、X 光、電腦斷層掃描相輔助使用之效果追蹤及實際之成果運用，皆待更進一步探討。

在結核病的治療上，若能於受感染的潛伏期發現並立即接受治療，可有效減少日後發病的機會，也可以防止這些潛伏型帶原者繼續將結核菌傳染他人；發病後若接受適當的結核病藥物治療，結核病幾可完全治癒，但若不予治療，約有一半的病人會在發病後三年內死亡。然而，在 1980 年後，因為各國防治和用藥計畫的不確實，使得結核病有捲土重來的趨勢，並衍生出多重抗藥性結核病（MDR）、甚至超級抗藥性（XDR）結核病的發生，大大增加了治療結核病的難度，更有可能散播具抗藥性的結核桿菌感染源，對全球結核病防治更是一大威脅。

有效的結核病防治策略必須包含診斷正確、有效治療與管理，以達治癒目標。結核病的改診斷比率常因臨床診斷不具特異性、細菌學早期診斷敏感性不高、放射學診斷特異性、臨床醫師診斷經驗與結核菌素測驗在臺灣因卡介苗政策缺乏積極診斷意義等特性而有差異（黃青青等，2003）。因此，醫師診斷素養的提升、發展新工具以得到更新的診斷效度、相關檢驗之訓練及資訊的提供，都是未來極需努力的課題，以減少不必要的醫療和管理開支。

2. 藥物具嚴重副作用

目前結核病第一線抗結核藥物，例如：isoniazid（敵癆剋星）、

pyrazinamide (敵癆新邁)、rifampin (立復黴素) 及 ethambutol (孟表多) 處方複雜，同時服用藥物種類約 3 至 4 種，病人一天所使用之藥錠數常常高達十幾至二十幾錠，副作用包括引起肝炎、肝毒性以及影響視力、皮膚過敏等，其中又以肝毒性最為常見，導致病人順服性差，因此，開發第一線藥物的新複方增加病人服藥的方便性是提高結核病防治效果之重要方向。同時，由流行病學及遺傳學在人類及實驗動物模式上之研究，顯示受感染宿主的基因體，如宿主間基因的多型性 (polymorphism)，亦扮演一個很重要的角色。所以，新抗結核病藥物亦須朝不同面向開發實為一件刻不容緩的工作。

根據 2002 年國立臺灣大學醫學院附設醫院結核病患使用抗結核藥物所導致肝毒性之前瞻性分析研究指出：在 261 位病人中 31.8% 的病人有肝功能損傷 (謝廷徽、陳培哲、高嘉宏, 2004)，肝毒性通常可於兩個月內被偵測出來，平均偵測天數為 43 天。尤其台灣市場上早已有數種 isoniazid 之學名藥，在 10-20% 使用 isoniazid 的病患中，可觀察到肝功能異常的情形，目前臨床上肝毒性的產生是必須停止抗結核藥物治療的可能主因之一，由於抗結核藥導致肝毒性可能的危險因子包括：愛滋病帶原、B 型肝炎帶原、C 型肝炎帶原、慢性肝病、治療前肝功能異常、酒精成癮等 (謝廷徽、陳培哲、高嘉宏, 2004)。台灣是 B 型及 C 型肝炎的盛行區，感染肺結核之肝炎患者也不在少數，假設每年有 14,000 名新增的肺結核病患，粗略估計至少有 2,000 名到 3,000 名慢性肝病患者需接受抗結核藥物治療，因此在這些病患身上所可能發生的肝毒性是不可忽視的醫源性疾病。故本研究團隊欲開發之無肝毒性 isoniazid 產品，以去除 isoniazid 肝毒性可大為增加預防性治療的安全性，可有助於抗結核病之治療。

以往病人採取傳統單一藥物處方，在治療密集期通常需要一日攝取超過十顆錠劑，而固定劑量複合製劑則需一日攝取三或四顆錠劑；兩者一比較，患者較偏好固定劑量複合製劑也有較佳的治療順從性。近年來世界衛生組織推薦 4-drug FDC (Four-drug fixed-dose combinations, FDCs) 作為促使抗結核治療的利器，但是目前的研究結果仍顯示，FDC 藥物對於結核病的治癒與盛行率之改善尚無顯著功效，造成此結果的原因除了考量病人的順從性之外，另外改善劑型以提升 Rifampicin 之 BA 為目前 FDC 製劑所面臨的最大課題，而製劑上仍有許多細節會影響藥物的療效與安定性等，故本計畫著重在開發新劑型以避免 Rifampicin 之 BA 下降與提升藥物之安定性及療效。最終發展出適合國人使用的四合一抗結核 FDC 製劑藥物，並貫徹直接監督短程治療的方式，杜絕抗藥性結核病的氾濫，以期增進全民的健康福祉。

(三)發病機制與疾病模式部份

1.接觸者相關調查不足

大部分新診斷的結核病個案，發病的原因都是來自於再活化（reactivation），也就是之前曾被結核菌感染過、之後結核菌蟄伏於體內（latent tuberculosis infection, LTBI）、爾後才活化造成活動性結核病，由於結核之復發常常發生在密切接觸開放性肺結核的生活環境中，然而這樣的環境中，傳統的密切接觸者及潛伏結核感染常常被高估或低估其傳播感染的可能性。因此，如何於臨床上找出潛伏性結核感染的接觸者，並進一步投予預防性治療（preventive therapy），是公共衛生政策上控制、甚至進一步根除結核病很重要的一環。近幾年來由於在疾病管制局與全國醫護、公共衛生人員之努力下，結核病發生率已逐年降低。為了更進一步地降低發生率、甚至撲滅結核病，往後的幾十年，預防潛伏性結核感染的發病，重要性將與日俱增。然而，目前仍然沒有標準的預防群突發或診斷潛在結核感染的方法或流程，因此適當的公共衛生政策、篩檢工具與處方，對於台灣地區潛伏性結核感染之預防性治療具最佳預防效果是急待研究的議題之一。

2.發病機制須完整釐清

疾病管制局(CDC)於民國九十六年年四月所實施建構多重抗藥性(MDR-TB)結核病醫療體系—都治進階(DOTs-Plus)專案照護，針對將來若有多重抗藥病患時，各醫院（包含醫學中心及其他各級醫院）必須轉介至 MDR 結核病醫療體系進行二線藥物的藥物敏感試驗及二線藥物的治療。由於結核病可藉由空氣傳播感染，與多重抗藥性結核病病患之接觸者有可能導致發展成多重抗藥性結核病患。因此，找出潛伏感染者，並詳細瞭解其相關因素及資料(如：性別、年齡、工作場所、過去病史、結核病接觸史等)以密切監控其感染狀態，如此才可釐清多重抗藥性結核病之產生機制進而發展其預防模式，提早找出不同族群之潛伏性結核感染者並且密切追蹤結核病之預防是非常重要的。

3.高危險族群之掌握率須提升

根據過去研究，病患在感染結核病後，通常進入潛伏結核感染狀態，即臨床上無症狀，也無法從病患身上培養出結核菌，但皮膚結核菌素測驗結果為陽性。就一般大眾而言，從潛伏結核感染狀態進展為活動性結核病，一生約僅有10%左右的機會。雖然感染後不易發病，但有些人發病的危險性較高，如癌症患者、長期使用類固醇病患及慢性腎衰竭必須洗腎者等。若要成功地控制結核病，就必須防止結核菌傳播，並且早期診斷及治療潛伏性結核病（latent tuberculosis）。舉例而言，在接受長期透析之腎衰竭慢性病患高危險族群中，除接觸者外，其結核病之發生率、死亡率均較一般患者高，感染活動結核病的風險亦是一般的10至25倍之高。且根據美國腎臟

資料系統2009年報指出，台灣慢性腎衰竭洗腎人數，每百萬人中就有近兩千名洗腎患者，排名是全世界第一，故此類高危險族群對台灣而言絕對不容忽視。此外，依據紐約市針對長照機構的一項研究指出，它們住民的感染率為27.5%，而台灣的長照機構明顯高於它們。故針對長照機構及其多為65歲以上老人的高結核病發生率，故亦須針對此類族群提供相關改善方案。由於癌症患者之發生率持續增加，且其化學治療的廣泛應用，往往造成病人免疫功能下降，有可能會增加後續活動性結核發生之機會，但有關台灣地區癌症患者潛伏性結核感染比例與化療後肺結核發生情形之相關研究，目前仍十分缺乏。有鑑於此，本研究團隊計畫針對高危險族群建構早期治療與照護準則，針對其潛伏結核進一步轉成活動性結核前作有效防治，以減少結核病之傳播率。

(四)多重抗藥性與都治方面

目前結核病在多重抗藥性因素、都治施行等亦面臨許多臨床上急待解決之問題，包括：

1.病患遵醫囑性不佳致都治未盡完美

臺灣自民國八十六年起針對山地鄉全面實施都治計畫，直至民國九十年五月擴大到全國普遍採行 DOTs 策略後，結核病患之完治率仍只有近80%，尚未能達到世界衛生組織(WHO)所預期 85%的標準。在一全國性之調查中，以民國九十年當年度於疾病管制局所登錄之肺結核患者中，針對完治及未完治病患，以電訪方式調查是否有完成整體療程之相關因素中，統計結果發現「服用藥物後不適」、「感覺身體健康狀況已好轉」、「藥物之種類過多」等因素所佔比例最高，且在治療過程中，最讓結核病患感到困擾之原因依序為副作用大、治療時間過長、服藥次數過多等，以上結果顯示患者常易因與藥物相關之問題及對於不能中斷治療的觀念認知不足，進而導致無法完成肺結核之完整治療（胡曉雲、蔡文正、龔佩珍，2005）。由於中斷療程不但影響是國內結核病防治的重大因素之一外，同時亦增加防疫上的困難，即便是透過高成本的都治施行也易因個案狀況迥異，其實際施行成果仍不盡完善。

2. 不良醫療處方未能及時改善

目前結核病至少需要六個月的連續治療，且當病人併有明顯免疫功能不全狀態時，服藥期可能需要延長至少三個月；而伴有矽肺症的病人，也需延長二至三個月，此外，多種藥物混合治療是結核病短期化學治療的一大特色，但也由於藥物種類與錠數較多，常造成病人服藥劑量錯誤，或因選擇性服藥而造成所謂的單藥治療（monotherapy），結果不僅造成治療失敗，也可能導致耐藥性的發生（白冠壬，1997）。Darly & Ralph（1977）的

研究中指出治療的有效性與藥物之副作用、治療所花費的時間和金錢，都會影響病人是否遵從醫囑服藥，反之，治療花費之時間與金錢越多，則病人容易發生不遵從行為，因此，由於服藥的期間漫長，藥方複雜，這些都會導致病人常無法耐心完成療程，這都是在結核病治療上所會面對的阻力。

若要安全又有效的治療，端賴臨床醫師能於治療過程中密切追蹤，發生藥物副作用時適當處置，並依病人情況調整藥物組合。然而，在新結核病防治體系轉型後，大部分結核病患多在一般醫療院所接受治療，但是這些機構多年來缺乏有效的輔導和規劃，因此無法具備處理結核藥物副作用及多重抗藥性結核之能力，在這種狀況下充分授權給醫師，其醫療品質堪慮（莊志杰、許玫玲，2004），除對醫療院所執行充分的在職訓練與完整的設備規劃外，最重要的即是能及早介入改善治療方法與藥物，以改善現況。

3.特性個案多元化與醫療限制

多重抗藥性結核病（MDR-TB）是結核病治療失敗的重要因素之一，而如何預防並克服 MDR-TB 已成為全球公共衛生的迫切議題。根據世界衛生組織（WHO）報導，近十多年來各先進國家紛紛經歷了結核病人數回升的現象，鄰近的日本也首次發生連續兩年結核病人數的持續增加，美國更報告數次抗藥性結核病的流行，而臺灣的多重抗藥性結核菌比率也正在逐年增加中。據統計，國內曾接受第一線抗結核病藥物治療的結核病人有高達 67% 出現抗藥性，每年約有 300 位多重抗藥性結核病患者增加。然當結核病治療失敗後或發生抗藥性結核病後，再次治療時所使用的二線結核藥物會因為藥效差，易於產生二線藥物續發抗藥性、而且治療時間冗長，使治療成功的機會只有 50% 左右（Bastian & Colebunders, 1999）。有許多原因造成全世界抗藥性比率的增加，這些治療結核病失敗的原因，可能是由於醫生的疏忽與失誤，導致不適當的開始治療、療程，以及未能認知及明瞭病人的需要。

一般認為結核病的流行可能歸因於不遵從服藥或是行蹤不明失去追蹤，由 1999 年至 2000 年間台北市結核病個案資料中，王培東（2005）發現，其中中斷治療者佔 16.1%，而行蹤不明者佔 14.7%，是以中斷治療比率較高，而由 2002 至 2004 年之結核病資料庫統計資料顯示，目前完治個案亦只有一半，而行蹤不明及死亡約佔了五分之一。這些失敗的原因可能為國人對結核病信念及負面態度之想法，這也間接造成罹病者及家屬排斥感受進而不願接受治療。都治計畫（DOTs）的目標即是希望藉由密切追蹤訪視結核病確診個案，以確認服藥之順從性直到完治，由文獻中可發現其有以下之貢獻：提昇病患服藥順從性，使病人有超過 95% 的成功治癒機

會；經由成功治療活動性結核病患，切斷傳染源；預防多重抗藥性結核菌株發生（Chaulk & Pope, 1997）。因此，都治計畫是增加結核病患治療率的有效管理方法，也是結核病防治很重要的一環。惟因當前都會的發展以及生活型態的改變，藉由公共衛生護士或都治計畫關懷員以追蹤結核病患者的方式，不但必須花費相當龐大的人事經費，往往也會因為干擾患者正常生活，甚至洩露病情而被患者拒絕，造成無法阻斷「活動傳染源」（謝家如，林麗蟬，2003）。此外，在結核病防治之責歸於疾病管制局，慢性防治機構裁撤後，使得結核病病患流入一般醫療院所接受治療（張智華、王復德，2005），然醫院間結核病人與其他病人間的區隔並未能建立，未能徹底執行感染管理措施，也因此增加結核病院內感染的危險性，因而無論院內或院外，病人的管制監控系統都是結核防治計畫中不可或缺的一部分。

二、 研究目的

本整合型研發計畫總目標，以建置結核病完整資料庫、開發快速診斷工具及低毒性抗結核處方、了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之發生率、抗藥性相關因素、困難個案就醫困境及抗結核藥物副作用之處理為主要方針，並延續與整合本研發團隊過去四年在相關領域累積的研發成果與研究資源，期許能協助行政院衛生署達成「結核病十年減半全民動員計畫」之目標。

鑒於全球結核病的嚴重性及有效防治的急迫性，根據我國目前結核病防治需求，執行任務導向之應用研究實為當務之急，此研究必須能涵蓋結核病相關的診斷方法與治療藥物的研發、了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之發生率、抗藥性相關因素、困難個案就醫困境及抗結核藥物副作用之處理，同時亦須結合不同領域之專家共同參與，方能有實務可運用之成果產出，也才能進一步於未來協助政府落實研究成果，以突破現階段面臨之結核病防治困境。

因此，本計畫自 2005 年即積極進行防治研究，並由陳維昭特聘研究員擔任主持人，協同主持人則有彭汪嘉康特聘研究員、楊泮池特聘研究員、胡幼圃特聘研究員、以及蘇維鈞特聘研究員等建立一全國性整合型結核病防治研發團隊，團隊則整合了包括台大醫院、慈濟醫院、榮民總醫院、三軍總醫院、雙和醫院、長庚醫院、馬偕醫院、衛生署胸腔病院、彰化醫院、壠新醫院及國防醫學院、亞洲大學等醫療體系及學研機構，加上台灣結核病醫學會等臨床、公衛與診斷、藥物專長的研究人員等共同投入，除集結國家研發能量外，並奠定國家結核病防治研究中心的根基。

本研究團隊所規劃之整合型研發計畫，其總目標包含四個主題，分就「建置結核病完整資料庫及分析應用」、「研發結核病診斷工具與降低藥物副作用」、「了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子」、「探討結核病抗藥性之相關臨床因素及困難個案診治」為主要方針，並整合流病、公衛與臨床應用以產出具體成果，同時也持續研發歷程，確保研發效益。以下即說明本計畫目標及本年度的計畫目標。

(一) 建置結核病完整資料庫及分析應用

1-1 建立完整的結核病資料庫：包含病患臨床表現、治療反應、宿主因子、及結核菌株

◆本年度目標：

1. 結合包括臺大醫院、台北榮民總醫院、三軍總醫院、高雄醫學大學附

設中和紀念醫院、亞東紀念醫院、台北萬芳醫院、花蓮慈濟醫院、彰化基督教醫院、臺大醫院雲林分院、行政院衛生署胸腔病院等 10 家大型醫院的結核病患，建構系統化之結核病個案資料庫。

2. 建立完整且定期蒐集系統化臨床資料、生物檢體及胸部 X 光影像，並持續建立網絡資料庫與建構標準化收案規範、控管及共享模式，以深入分析並釐清結核病之各種特性。
3. 確認並追蹤監控結核病人完治後復發及再感染之機率與危險因子。

(二) 研發結核病診斷工具與低副作用藥物

- 2-1 應用核酸質譜儀與免疫磁減量技術發展快速偵測結核菌及其抗藥性之新技術
- 2-2 開發抗結核複方製劑及應用代謝酵素抑制劑研製低肝毒性之 Isoniazid、Rifampin、Pyrazinamide 抗結核藥物
- 2-3 利用奈米科技研發新劑型抗結核藥物
- 2-4 建立增強 *SP110* 基因所調控的免疫力之藥物篩選平台

◆本年度目標：

1. 開發快速、精確、特異性高且價廉之有效篩檢潛伏結核感染、抗藥性結核病之診斷工具 2 組。
2. 開發無肝副作用新複方：包括 isoniazid、rifampin 與 pyrazinamide，並以代謝酵素基因型預防 isoniazid 及 rifampin 之副作用發生；同時，完成開發新穎四合一抗結核藥物(並完成查驗登記-藥證之申請)，以增進服藥順從性。
3. 研發藉由強化 *SP110* 基因所調控之免疫力化合物及奈米化與低毒性之新抗結核藥物。

(三) 了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子

- 3-1 比較兩種預防性治療處方對於結核病家庭接觸者、密切接觸者的預防成效
- 3-2 結核病高危險族群，包括醫護人員、愛滋病毒感染病患、慢性呼吸衰竭病患、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物 (anti-tumor necrosis factor blockade) 治療之自體免疫疾病患者、血液及腹膜透析病人、長期照護機構、第二型糖尿病患者、以及肺癌病人之潛伏結核感染追蹤調查

◆本年度目標：

1. 建立標準化之高風險族群之接觸者調查與預防性治療，評估 9 個月 Isoniazid (INH)或 4 個月 Rifampicin (RIF)對於降低結核病發病的成效。
2. 建構完整接觸者調查模式與探討拒絕接觸者相關因素之資料庫，以了解致病機轉之影響因素，有效防止結核病傳染源之擴增。
3. 確認高危險族群(包括：醫護人員、愛滋病毒感染病患、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療之自體免疫疾病患者、第二型糖尿病患者、和肺癌病人)與人口密集機構(包括：血液透析室、呼吸治療中心、長照機構等密閉空間)潛伏結核感染的盛行率、發生率，以及進展為活動性結核病之比例及相關危險因子。

(四) 探討結核病抗藥性及多重抗藥性之相關臨床因素及困難個案診治

- 4-1 抗結核藥物肝傷害的生物標記及療程中發生肝炎患者之不同加藥流程的成效比較，並進一步探討嚴重肝硬化病患之二線抗結核藥治療處方
- 4-2 重度肺結核與複雜性多重抗藥性肺結核之治療策略及影響臨床治療成效因素
- 4-3 「不良結核病醫療處方及早介入改善措施模式」之建立與評估
- 4-4 東台灣的結核病防治計畫

◆本年度目標：

1. 瞭解結核病抗藥性之相關臨床因素及藥物性肝炎等副作用之機轉及預測因子(臨床因素、代謝酵素基因型)，藉以調整與重新啟動治療之標準流程和處方。
2. 瞭解非正確之抗結核藥物處方與困難個案就醫困境及相關因素，並提出及早介入措施與治療策略，改善結核病患之就醫品質，達到減少因服藥順從性不佳所導致抗藥的產生。
3. 建立針對抗藥性比例高、完治率較低之山地鄉之加強防治模式，以改善結核病患之診治、副作用處置和減少死亡率和提升治療成功率。

(五) 結核病國際/兩岸研究交流與合作

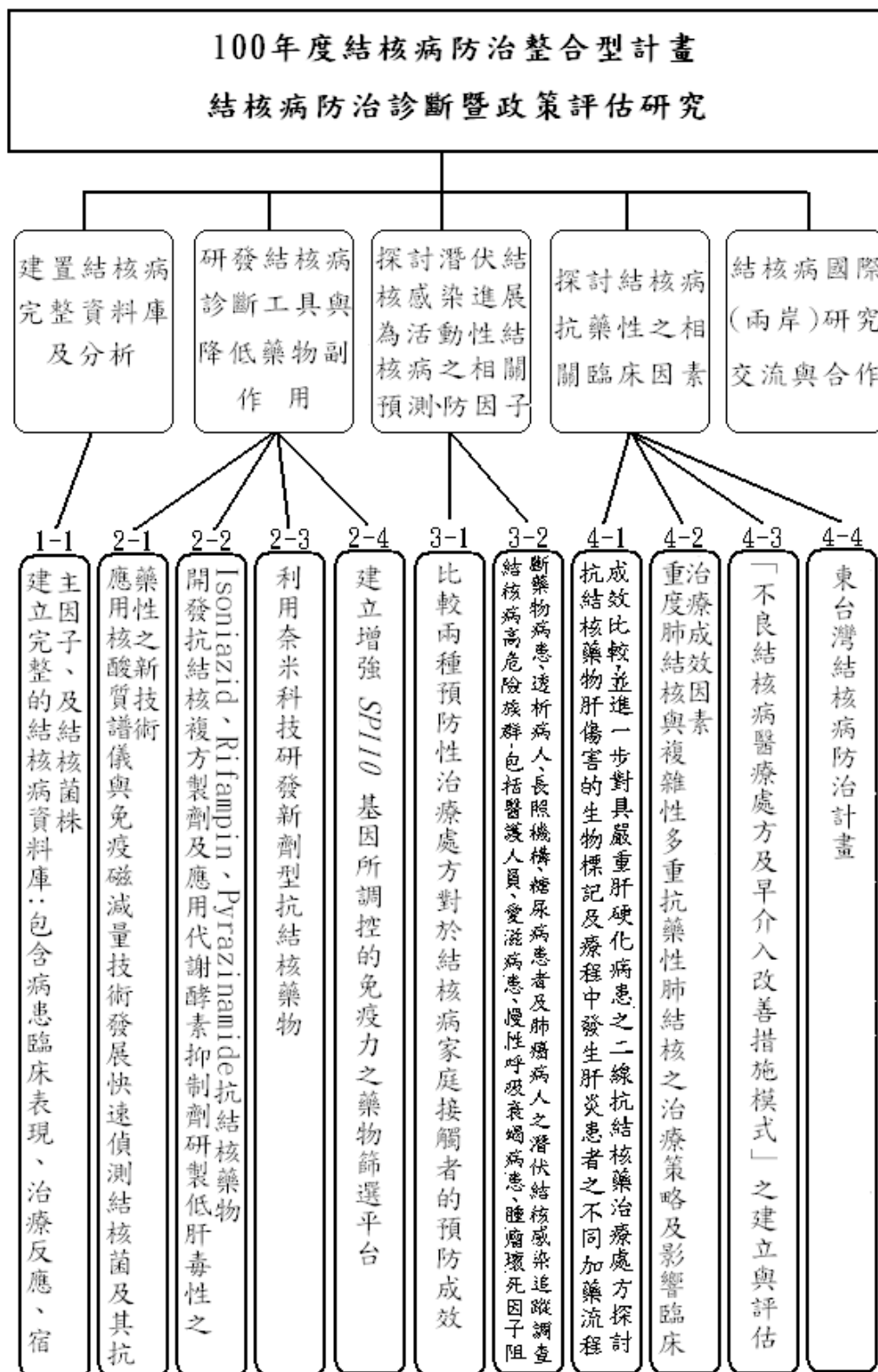
世界衛生組織(WHO)已將結核病、愛滋病及瘧疾列為當前最需重視之三大疾病，並致力推動各國專家一同擬訂結核病研究之指引及方針，而

我國在推動結核病研究計畫之時亦應與各進國家共同合作交流，始能掌握最新結核病趨勢與結合重要科研資源。除此鑒於兩岸合作往來與經貿互動愈見頻繁，大陸嚴重的結核病疫情勢必衝擊本土，考量海基、海協兩會已於 2010 年 12 月簽訂「醫藥衛生合作協議」，其中在傳染病防治面向已納入合作交流項目，故本計畫擬同步推動國際與兩岸合作，一方面架構國際合作研究網絡，一方面則探究大陸相關結核病防治工作現況與科研趨勢脈絡，以利主管機關掌握大陸結核病疫情的整體情勢。本年度「結核病國際/兩岸研究交流與合作」研究主題係由總計畫直接推動，目標如下

◆本年度目標：

1. 舉辦至少 1 場「國際結核病防治與研發合作論壇」，邀請國外/澳洲百年研究所-結核病重點科研機構專家來台演講與交流結核病資料庫建立、快速診斷、低副作用抗結核藥物開發及探討發病機制等重點議題及防治趨勢。
2. 籌辦至少 1 場「兩岸結核病防治專家研討會」，與大陸結核病防治重點機構如衛生部疾病預防控制局、中國疾病預防控制中心及中華醫學會(台灣結核病醫學會為其分支)等共同探討包括兩岸結核病現狀與疫情趨勢、公衛流病監測系統、新診斷技術與新藥開發、疾病模式及抗藥性與多重抗藥性研究等項目之具體交流與合作推展。

為能達到上述目標，本結核病防治研發整合型計畫在五個計畫主題上，共包含十一項子計畫(請參照本年度規劃架構圖)。以下即詳述主題內涵及各項子計畫之執行重點：



貳、材料與方法

本結核病防治研發整合型計畫分為四個計畫主題，分別為「建置結核病完整資料庫及分析應用」、「研發結核病診斷工具與降低藥物副作用」、「了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子」、「探討結核病抗藥性與多重抗藥性因素及困難個案診治」；另為能建立國際與兩岸在結核病防治研究之交流與合作，亦由總計畫推動「結核病國際/兩岸交流與合作」。

以下即分別說明各主題之具體執行研究內容：

➤ 計畫主題一、建置結核病完整資料庫及分析應用

本計畫子題為「收集個案與接觸者臨床表現、治療反應，分析、追蹤與監控個案復發與再發感染情況」，其子計畫之執行重點及方式分述如下：

1-1 建立完整的結核病資料庫:包含病患臨床表現、治療反應、宿主因子、及結核菌株

1.執行重點：本研究計畫旨在針對確診為結核病之病人及其家庭接觸者（取樣機構：臺大醫院-含臺大醫院雲林分院、亞東紀念醫院、三軍總醫院、高雄醫學大學附設中和紀念醫院、台北榮民總醫院、台北萬芳醫院、行政院衛生署胸腔病院、花蓮慈濟醫院與彰化基督教醫院），系統化收錄結核病個案臨床資料、治療過程及家庭接觸者的追蹤篩檢，並建立一個完整的結核病資料庫，包含有關病人臨床表現、可能暴露來源、結核菌株基因型、實驗室檢查結果、影像學、治療經過與反應等電子化資料，並且規則收集培養確診病患及其家屬之血液，分離並儲存 DNA、RNA、蛋白質、和血漿，以供進一步進行各種宿主（基因多型性、SNP）及菌株之相關研究。藉此，亦針對結核病個案完治後之定期追蹤篩檢，進一步了解結核病復發率、家庭接觸者發病的機率、原因、預測因子、及建立接觸者標準化的追蹤流程。未來除持續收集個案外，與各醫院專家討論如何共享資訊及檢體，也將是工作重點目標。本年度預定計畫相關發展及進程，並預定研究對象為培養確診為肺結核的病人及其家屬：

- (1)各合作醫院訂定標準化之收案流程
- (2)收集臨床資料以及相關檢體
- (3)預計收案培養確診結核菌患者及家屬 400 人。
- (4)宿主基因多型性與結核菌株基因型的分析

➤ 計畫主題二、研發結核病診斷工具與低副作用藥物

本計畫主題共包括二個子題，分別為「發展結核、潛伏結核感染快速、正確、可供公共衛生大量使用且價格低廉之診斷工具或技術」、「研發適合國人劑型、劑量且低副作用之有效性抗結核藥物」，其子計畫之執行重點及方式分述如下：

2-1 應用核酸質譜儀與免疫磁減量技術發展快速偵測結核菌及其抗藥性之新技術

- 1.執行重點：**本計畫主要目的在開發快速、正確、可供公共衛生大量使用且價格低廉之診斷工具或技術。本年度計畫將達成兩大目標：(一)應用核酸質譜儀技術，建立高敏度的結核菌抗藥性偵測平台，及(二)利用免疫磁減量技術開發更簡單、方便、準確的結核菌偵測套組。計畫共分為二個部份進行，第一部份將應用核酸質譜儀技術，針對目前結核菌的抗藥機制，設計多種抗藥基因的專一探針，發展結核菌抗藥性的分子檢測平台。其次，直接由痰液或病人呼出之冷凝液萃取結核菌 DNA 進行快速篩檢。第二部份則先選擇合適之偵測標的:以結核菌中 RD1 基因片段中 *esat6* 以及 *hsp* 基因為主，選殖此兩段基因並利用 *E. coli* 將其表現出來。再利用大量表現之 ESAT6 及 CFP10 兩個蛋白質，進行磁性奈米粒子的接合(蒐集臨床實驗室即將銷毀之痰液檢體與培養之結核菌株，預估約 100 例，經去名化處理，加熱去污染後，進行本研究)，利用此經過蛋白質接合標定之磁性奈米粒子，與血清檢體反應，觀測其抗體檢測之結果並紀錄。最後將全血檢體中的單核球細胞分離培養，再以純化出之 ESAT6 及 CFP10 兩種蛋白質進行刺激，另一方面以抗人類 INF-r 之抗體與磁性奈米粒子接合，將此接合物與單核球培養之上清液反應，偵測 INF-r 上升量值，觀測其結果並記錄。上述兩部分試驗並同時架構 ELISA 檢測平台。最後將兩種不同方法學之結果同時與 ELISA 方法學、醫師診斷結果同時進行比較，將可以明確得知免疫磁減量技術應用於結核病檢測之狀況。預計此兩項技術的開發完成，將可加速結核病的診斷與縮短藥物敏感試驗的時間，解決臨床病人痰液收集之困難，提供快速、便利的結核菌偵測與抗藥性檢測，即時給予病人適當的治療，減少抗藥菌的產生，達到防制結核病之目標。

本計畫預計以過去五年台大醫院檢驗醫學部所累積之結核病例檢體至少約 250 例，初步將亂數抽取 30 例作為訓練族群進行平台建立；另 220 例做為測試群組進行驗證測試(以雙盲方式進行結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌檢測)；同時計畫執行期間，將建立病人呼出氣冷凝液檢體結核分枝桿菌檢測平台，預計針對回診之抗藥性結核病患完成至少 30 位呼出冷凝液之先期測試。

2-2 開發抗結核複方製劑及應用代謝酵素抑制劑研製低肝毒性之 Isoniazid、Rifampin、Pyrazinamide 抗結核藥物

1. 執行重點：本計畫著重在針對第一線抗結核藥物如異菸鹼醯胺 (isoniazid, 俗稱敵癆剋星)、丙基硫異菸醯胺(pyrazinamide, 俗稱敵癆新邁)及立復黴素(rifampin)等雖然廣泛應用在臨床治療，但卻都有其特殊的問題存在(如肝副作用及服藥順性不佳等)，也常常導致結核防治上的一些難題，為徹底改善第一線用藥的問題，本計畫擬從下列四個方向，全方位解決現存的問題，預定執行之四大項工作項目如下所列：

(1) 預防副作用發生：以代謝酵素基因型預防 isoniazid 及 rifampin 之副作用發生：

- ◆ 以前階段已發現之高風險基因型及其組合 (*NAT2*: rs1779930, rs11996129, rs1961456, rs1112005, rs2087852; *CYP2E1*: rs3813865) 為基礎，進一步找出具有代表性之一個或兩個高風險基因型，如此方能快速及例行性的應用在臨床診斷上篩檢結核病人之高肝副作用風險基因型。
- ◆ 以前瞻性試驗方式，在結核病人治療前即先行測試其高風險基因型，並密切觀察其後續治療狀況及副作用發生狀況，以驗證高風險基因型的預測結果。

(2) 開發無肝副作用新複方：isoniazid 與 rifampin

依前期計畫體外、動物體內、臨床試驗證實之有效去除 INH/RIF 肝毒性之 *CYP2E1* 抑制劑/amidase 抑制劑，基於前期已完成之單一處方劑量臨床試驗結果，進行無肝副作用 isoniazid/rifampin 處方設計，確定口服劑型組成及劑量之臨床試驗。

- ◆ 不同處方之低副作用 Isoniazid/Rifampin 劑型於健康受試者體內藥動學研究
- ◆ 不同處方之低副作用 Isoniazid/Rifampin 劑型於健康受試者體內對 *CYP2E1* 活性及相關指標影響研究

(3) 開發無肝副作用新複方：pyrazinamide

- ◆ PZA 併服或不併服代謝酵素抑制劑於 PZA 藥動學影響之研究。
- ◆ 依據於動物、人體內證實 5-OHPA 為 PZA 造成肝毒性之代謝物，評估其代謝酵素不同基因型造成肝毒性之風險。
- ◆ PZA 代謝酵素基因型於國人發生頻率之研究。
- ◆ 開發安全、無毒性副作用第一線抗結核藥物 PZA 製劑。

(4) 增加服藥順服性：開發新穎四合一抗結核藥物

- ◆ 依據 99 年度 32 人次之人體臨床試驗結果，若無法符合 BA/BE 要求，則將進一步改良有潛力的抗結核病四合一複方製劑，以期開發出目前國內市場仍缺的四合一抗結核病第一線藥物。
 - (a) 改良有潛力的抗結核病複方製劑，於 cGMP 藥廠製造 bio-batch 並符合相關規範（如：配方設計裡的安定性試驗、分析方法確效…等等）
 - (b) 以動物試驗先初步了解改良後製劑與對照藥於動物體內表現形況
 - (c) 進行相關 bio-batch 執行人體的生體相等性臨床試驗之申請與其準備工作
 - (d) 如有需要，再進行四合一複方製劑的人體預試驗
 - (e) 視實際試驗結果來進行抗結核病複方製劑於人體生體相等性之臨床試驗(30 人次)
 - (f) 將統整臨床試驗數據與相關查驗登記所須實驗成果與紀錄，完成藥政的申請手續

若人體臨床試驗結果順利符合 BA/BE 要求，則進一步嘗試修改處方，朝減少服用錠劑顆數，即可達體內治療濃度，提升病人服藥順服性及舒適性的方向研發；另外也將利用已建立開發的製藥平台，與減少副作用藥物或治療其他疾病（如：愛滋病等）的藥物結合的方向研發。

2-3 利用奈米科技研發新劑型抗結核藥物

1. 執行重點：研發具高度標靶性的新劑型奈米化抗結核藥物，以口鼻吸入方式直接送藥至肺部，精準毒殺肺泡中巨噬細胞內之結核菌，以減低藥物副作用，增進治療的效果。以下敘述預定完成目標。

建立藥物製程，進行藥物試驗

- (1) 將抗結核藥物使用低 pH 較易裂解的化學鍵結稼接於奈米 SiO₂ 表面。
- (2) 將與肺泡巨噬細胞結合專一性高的分子 maleylated bovine serum albumin (MBSA) 和 O-steroyl amylopectin (OSA) 覆蓋在外，形成具高度標靶性的奈米化抗結核藥物。
- (3) 使用 THP-1 巨噬細胞株或肺泡巨噬細胞，探討此一奈米化藥物的標靶性毒殺效果，並與原始抗結核藥物進行比較。
- (4) 探討此一奈米化藥物的細胞毒性。

2-4 建立增強 *SP110* 基因所調控的免疫力之藥物篩選平台

1.執行重點：經由近期之研究結果顯示在細胞中表現 *SP110* 基因會抑制細胞壞死及促進細胞凋亡，利用此表現 *SP110* 基因的細胞模式，以高通量細胞影像分析系統 (cellular analysis of images for high content assays) 為平台來篩選增強 *SP110* 基因所調控的免疫力之化合物。如果成功的話，此細胞模式篩選平台 (cell-based screening platform) 的建立將可望對未來結核病的治療與藥物的研發提供一個新的策略與方向。(研究方法：1.建立化合物庫；2.建立高通量細胞影像分析系統的篩選平台；3.細胞凋亡檢測；4.活體外細胞感染測試)。

➤ 計畫主題三、了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子

本計畫主題共包括四個子題，分別為「建立標準化接觸者調查追蹤與治療模式」、「評估不同族群之防治模式與潛伏結核感染治療，發展各年齡層、性別潛伏性感染風險評估與追蹤計畫」、「拒絕接觸者調查相關影響因素之探討與分析」、「建構與評估結核病高危險族群(例如慢性腎臟病患、癌症病人、使用免疫抑制劑患者或人口密集機構)之潛伏結核感染治療照顧準則與方案」其子計畫之執行重點及方式分述如下：

3-1 比較兩種預防性治療處方對於結核病家庭接觸者、密切接觸者的預防成效

1.執行重點：藉由長時間追蹤結核菌素皮膚試驗或丙型干擾素釋放試驗陽性之成年家庭接觸者及結核病高發病風險族群（密切接觸者、透析治療患者以及自體免疫疾病患者），並給予預防性治療，比較結核菌素皮膚試驗與丙型干擾素釋放試驗對於預測結核病發病的準確性，同時探討9個月的isoniazid以及4個月的rifampicin，何者最適合台灣地區作為潛伏性結核感染預防性治療的處方。同時，並對於一開始即不願意接受篩檢的成年家庭接觸者或結核病高發病風險族群，將進一步詢問並記錄原因。本研究計畫參與醫療機構為國立台灣大學醫學院附設醫院、慈濟醫院台北分院、三軍總醫院、行政院衛生署胸腔病院。同時，預計之收案數及執行內容敘述如下：

- (1) 找出結核病人之成人家庭接觸者以及透析治療、自體免疫疾病患者等結核病高發病風險族群，先以胸部X光或驗痰排除活動性結核病：預計於民國100年內篩檢1200人。
- (2) 利用結核菌素皮膚試驗及丙型干擾素釋放試驗篩檢出潛伏性結核感染者：預計於民國100年在接受篩檢的1200人當中，三分之一

檢測陽性，推斷為潛伏結核感染者。

- (3) 納入 120 人隨機分組給予 9 個月的 Isoniazid 或 4 個月的 Rifampicin 進行預防性治療：民國 100 年 1 月 1 日 ~ 民國 100 年 12 月 31 日。
- (4) 針對不願接受接觸者篩檢或不願意接受預防性治療之成人家庭接觸者詢問拒絕的原因：預計於民國 100 年內訪問 120 位拒絕篩檢或治療的人者（有效樣本數）。
- (5) 研究個案持續結核病篩檢：每 6 個月收取進行胸部 X 光檢查及丙型干擾素釋放試驗，若有咳嗽則驗兩套痰。

3-2 結核病高危險族群，包括醫護人員、愛滋病毒感染病患、慢性呼吸衰竭病患、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物（anti-tumor necrosis factor blockade）治療之自體免疫疾病患者、血液及腹膜透析病人、長期照護機構、第二型糖尿病患者、以及肺癌病人之潛伏結核感染追蹤調查

1. 執行重點：

利用丙型干擾素釋放試劑，針對結核病高危險族群進行追蹤測試。所謂高危險族群包括醫護人員、愛滋病患、透析治療患者、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療之自體免疫疾病患者、接受化學治療之肺癌患者、糖尿病患者、呼吸衰竭患者、以及長期照護機構之住民。

- (1) 瞭解結核病高危險族群中丙型干擾素釋放試劑測試呈陽性之橫斷面盛行率，並分析相關因子。
- (2) 對於陰性反應之個案，定期丙型干擾素釋放試劑追蹤檢測，探討檢測結果陽轉之發生率，並分析危險因子及血液發炎指標。
- (3) 對於檢測結果成陽性的個案，將由個案臨床主治醫師依病患條件狀況評估是否給予預防性投藥，而無論其是否接受 latent TB 之治療，皆將前瞻性追蹤其發生結核病的發生率。
- (4) 潛伏結核感染篩檢的成本效益。

100 年度工作項目：

- ◆ 結核病高危險群丙型干擾素釋放試劑測試：民國 100 年 1 月 1 日 ~ 民國 100 年 12 月 31 日。
- ◆ 丙型干擾素釋放試劑測試陽性者，不論其是否接受 latent TB 之治療（由其臨床主治醫師依病患條件狀況評估是否給予預防性投藥）

持續結核病篩檢每年接受胸部 X 光: 民國 100 年 1 月 1 日 ~ 民國 100 年 12 月 31 日。

- ◆ 丙型干擾素釋放試劑測試陰性者持續每半年一次丙型干擾素釋放試劑測試: 民國 100 年 1 月 1 日 ~ 民國 100 年 12 月 31 日。
- ◆ 針對醫護人員，在結核病暴露後，每兩週一次丙型干擾素釋放試劑測試(至追蹤 12 週止): 民國 100 年 1 月 1 日 ~ 民國 100 年 12 月 31 日。

100 年度研究樣本數: 為一 prospective cohort

100 年目標: 預計納入新進醫護人員 100 人，結核病暴露之醫護人員 100 人；第二型糖尿病患者 120 人；呼吸衰竭患者 150 人；呼吸照護病房患者 150 人；長期照護機構住民 150 人；透析治療患者 150 人；接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療之自體免疫疾病患者 300 人；接受化學治療之肺癌患者 100 人；愛滋病患與器官移植患者合計 150 人。共 1470 人。

➤ 計畫主題四、探討結核病抗藥性之相關臨床因素及困難個案診治

本計畫主題共包括三個子題，分別為「山地鄉防治介入措施模式之建立與評估」、「不良結核病醫療處方及早介入改善措施模式之建立與評估」，「結核病困難個案就醫困境及其危險因素之探討與分析」其子計畫之執行重點及方式分述如下：

4-1 抗結核藥物肝傷害的生物標記及療程中發生肝炎患者之不同加藥流程的成效比較，並進一步針對具嚴重肝硬化病患之二線抗結核藥治療處方探討

1. 執行重點: 藥物性肝傷害已成為極重要的醫學及公共衛生議題。目前結核病在台灣之發生率仍居高不下，其眾多原因中由於抗結核藥物所引起之肝傷害。由先前研究得知，我國結核病患在療程中，有 19% 曾發生治療中肝傷害，使結核病患者易中斷治療，無疑是治療失敗的重要原因之一。對第一線抗結核藥物而言，即使在使用中病人發生肝功能異常，若臨床上無症狀，並不一定需要停藥，肝指數之上升常會逐漸恢復正常。但目前尚無法由肝功能之檢測分辨哪些病人之肝指數異常會自動恢復或進行至嚴重之肝傷害。而傳統肝功能檢查其實是屬肝傷害之晚期標記，故如何儘快找出準確的診斷藥物性肝傷害之生物標記，是亟需解決的問題之一。

同時，病人由抗結核藥物性肝傷害恢復後，臨床醫師如何安全而快速的重新使用上標準抗結核處方。早期英國的指引建議由每種藥物之小量劑量逐漸加量和加藥，但相當耗時，病患無法得到足夠的藥物濃度及

種類，可能會繼續散佈結核菌。近期美國的指引則建議直接給予每種藥物之標準劑量，並逐一加藥，可能可以縮短加藥所需耗費的時間，但目前仍無實際的研究加以證實。而針對目前肝硬化的病人在接受第一線抗結核藥治療時，約有 67% 會產生肝功能異常，而硬化嚴重度 Child 分級 B 與 C 的病人，其肝毒性發生率會高達 80%，其中有六成的病患須改用二線處方，有些病人甚至沒有機會嘗試二線藥，就因為肝衰竭與其他併發症而過世。因此我們亟需探討，針對嚴重肝硬化病患(Child B 或 C)，直接使用肝炎發生率低的抗結核藥二線處方之可行性。

本年度計畫將進行下述目標：

- (1) 在結核病治療過程中發生藥物性肝傷害時，是否可找到生物標記，以幫助我們儘早準確的診斷藥物性肝傷害，判斷此種藥物性肝傷害是否為暫時之反應，判斷此種藥物性肝傷害的預後(復原、急性肝衰竭、肝硬化)，判斷此生物標記是否與某種特定之抗結核藥物 (如: isoniazid、rifampicin、pyrazinamide) 有關。本年度進程預計收結核病病患 70 人，其中有抗結核藥物肝傷害者預計有 20 至 25 人，健康接觸者 30 人。並由過去 4 年內，收於 database 中之結核病病人，預計找出 100 位病人之血液。Pharmacogenomic study 中，觀察 pregnane X receptor 及 CYP1A2 genotype 與抗結核藥物肝傷害 (尤其是 rifampicin related 肝傷害) 是否有關。Cytokine study 中，觀察 proinflammatory (TNF- α 、IL-6、IL-12、IFN- γ) and anti-inflammatory cytokine (IL-10) 與抗結核藥物肝傷害 (尤其是 pyrazinamide related 肝傷害) 是否有關。
- (2) 在結核病治療過程中發生肝炎時，如何在最短的時間內，安全的重新使用上標準抗結核處方，重新上藥時，肝炎的復發率，以及各種藥物引發肝炎的機率，此部份則預定收案 100 人，每組各 50 人。
- (3) 針對探討介入方式的研究，則以評估嚴重肝硬化病患(Child A 或 B 或 C) 直接使用肝炎發生率低的抗結核藥二線處方之治療成效、產生肝炎的比例、藥物副作用、復發比例與復發菌株的抗藥性。排除年齡小於 18 歲、孕婦、精神病患者、腎功能不全(血清肌酐酸大於 3.0 mg/dL) 與對處方藥物過敏者。病患經簽署受試者同意書後加入；預計本年度將評估收案病患所接受治療處方的療效(痰液塗片與培養陰轉的速度與比例、胸部 X 光的變化) 與安全性(產生肝炎或其他副作用的比例)，本年預計收案 32 名結核病人。

4-2 重度肺結核與複雜性多重抗藥性肺結核之治療策略及影響臨床治療成效因素

1. 執行重點：探討重度與複雜性多重抗藥性肺結核病個案提早使用非正規

治療策略的時間點，並評估臨床上的治療療效，提高治癒率。在重度結核病部份，利用回溯性研究，蒐集 2006 年 1 月至 2007 年 12 月間花蓮佛教慈濟綜合醫院、台北市立萬芳醫院、行政院衛生署台中醫院、行政院衛生署彰化醫院與行政院衛生署胸腔病院等台灣地區北部、中部、南部與東部 5 家醫院 300 名重度(150 名)與非重度肺結核(150 名)個案，針對臨床治療紀錄與檢驗等各項資料，運用多變量分析及存活分析方法，進行治療策略與關鍵因素分析。此外，複雜性多重抗藥性結核病：從 MDR-TB 照護體系中（各團隊台北團隊、東區團隊、北區團隊、中區團隊、南區團隊），對 7 種以上抗結核病藥抗藥的患者或無足夠抗結核藥物可用者納入研究對象，根據 2007 到 2010 多重抗藥性結核病醫療照護體系加入專案的個案所分析與統計，中區 MDR-TB 目前有 5 位可能符合收案條件。預估每個團隊有相同的個案比例，預定收案個案為 15-25 位。其中治療過程全程以包括第 5 類抗結核病藥品，以積極治療方式至痰陰轉 18 個月，並評估使用第五類藥物痰檢體陰轉率及風險評估。

4-3 「不良結核病醫療處方及早介入改善措施模式」之建立與評估

1.執行重點：本計畫將與疾病管制局合作，運用疾病管制局的資料庫，先建立電腦篩選系統，依據台灣結核病診治指引所建議的處方為標準處方，其他不一樣的處方為異常處方，一旦發現為異常處方時，由研究助理先將異常處方分類，分類為劑量不足，劑量過重，種類不足或種類過多，治療時間過長或過短，藥物副作用改藥等，本計畫將聘請審查醫師，由結核治療的資深臨床醫師，做進一步的評估與建議。之後會將建議轉給開藥的醫師，並做雙向的溝通。其程式執行之主要流程如下：

- (1) 確定用藥組合，留下所需欄位。
- (2) 除錯，進行數字或文字修改。
- (3) 除錯，挑出所需欄位可能的錯誤，並註解。
- (4) 使用剩餘之正確資料計算容忍範圍，並計算處方是否標準。
- (5) 用標準處方劑量計算實際用藥天數。
- (6) 計算各組合是否有達到標準（標準處方與不標準處方）。
- (7) 完成初步結果。

4-4 東台灣結核病防治計畫

1.執行重點：本研究計畫主要目的為加強與擴大台灣東部地區結核病之防治(以獨立運作之方式)，以降低東台灣地區結核病發生率，其主要分成三大主題：加強山地鄉結核病防治、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測與再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析。本計畫著眼於加強防治策略以減輕東部山地鄉之高發生率之問

題。策略分為個案發現和個案治療兩部份。其中，個案發現將加強 a.接觸者檢查 b.加強醫師通報 c.加強實驗室檢查及通報。個案治療方面將 a.強化都治策略 b.增設山地鄉結核病個案管理師 c.尋求醫學中心的支援 d.設計社區及社會介入模式，並以上述可行的策略強化山地鄉結核病防治工作。

此外，本研究亦將提供已通報多重抗藥病患，親密接觸者潛伏結核感染之篩選(預計完成 500 位親密接觸者檢查)，藉以了解在臺灣目前多重抗藥病患的傳染現況。於往後推廣潛伏結核病患追蹤及進行都治計畫時，可優先由此一族群，除能減少失落率外，亦能避免產生多重抗藥病患；藉由多重抗藥病患接觸者篩選，早期診斷潛伏感染及追蹤。同時，還將進行台灣東部地區再治結核病患之結核菌株基因型之分子流行病學調查。目前結核病病患再治之原因可分為治療成功再發，失落再治，與治療失敗再治三項可能。然而，再治結核病病患，屬復發或再感染仍有待釐清。因此，針對此研究納入之 100 位病人，於首次及再次註冊進行結核病治療時，所收集之痰液標本中的結核菌株，利用分子流病調查之工具進行分析，以嘗試釐清結核病患再治之原因、疾病復發或再次感染之對應關係。除此之外，亦對納入之結核病患於首次或再次註冊進行結核病治療時，運用藥敏(DST)測試其痰液標本中結核菌株之耐藥表現型的差異變化，並針對之間的相關性進行統計分析。最終目標是希望收案的結核病患可以達到 85%的治療成功率，死亡率控制在 10%以下，失敗率控制在 3%以下，失落率控制在 2%以下。

➤ 計畫主題五、結核病國際(兩岸)研究交流與合作

在國際交流研究部分，由總計畫辦公室籌辦國際研討會，邀請在澳洲投入結核病疫苗與傳染病發病機制研究且已有數篇發表於 Nature 與 Science 期刊的 Dr. Nicholas Paul West 來台，與研究團隊共同探討結核病機轉、應用研發與合作機制。另亦考量大陸結核病疫情對台灣的極巨衝擊與影響，規劃建立與大陸結核病防治重點機構之共同研究交流與合作平台。執行重點與預期效益說明如下

1.舉辦國際結核病研討會

- (1) **執行重點：**本計畫今年度將延續以往國際研發接軌之脈絡，並融合本研究計團隊之各專長領域，本中心已安排目前於雪梨百年研究所(Centenary Institute)擔任 Vaccine Development and Pathogenesis, Mycobacterial Research Group Head 的 Dr. Nicholas Paul West (預計於 2011 年 3 月 21 至 24 日訪台；Dr. Nicholas Paul West 目前致力於研究肺結核之發病機制、新藥及疫苗開發，並曾於 Science 及 Nature 等頂尖期刊發表有關 LPS 之毒性研究；且於 2010 年 3 月 24 日-World Tuberculosis Day 公開發表其團隊已研發治療潛伏性結核之新藥，

能在患者尚未出現症狀且未具傳染性的潛伏階段時將其治癒)，屆時將與本會與 TB 研究團隊進行學術交流及相關醫學研究合作的討論，其討論議題將包括：

- ◆ 結核病資料庫之建置、疫情發展監測及防治系統
- ◆ 結核病低副作用藥物及多價型疫苗之研發現況
- ◆ 結核病發病機制及快速診斷技術

2. 建立結核病兩岸研發合作交流機制

- (1) **執行重點：**本計畫即以過去與大陸衛生部等建立之溝通平台機制與在華人共有疾病之合作共識為基礎，聚焦推動深化兩岸結核病防治面向之研究交流與具體合作項目，除與大陸結核病防治重點機構包括衛生部疾病預防控制局、中國疾病預防控制中心及中華醫學會(台灣結核病醫學會為其分支)等建立共同研究交流與合作平台。並邀集國內具代表性結核病科研專家籌組合作交流委員會，具體在兩岸之疾病趨勢、公衛流病監測與疾病資料庫、新診斷技術與新藥開發、疾病模式及抗藥性與多重抗藥性探討，希藉醫藥專業與學術面的對話交流，結合兩岸在結核病研究上的能量與資源共同投入解決疾病問題，加速結核病疫情的下降，並議定兩岸結核病研究合作交流之推動架構模式。據此，於兩岸人民面對相同疾病威脅下，本計畫認為上述結核病相關研究與藥品技術研發，將是未來雙方可行之合作模式架構與促成兩岸結核病防治研究之合作。

參、結果與討論

本結核病防治研發整合型計畫分為四個計畫主題，分別為「建置結核病完整資料庫及分析應用」、「研發結核病診斷工具與降低藥物副作用」、「了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子」、「探討結核病抗藥性與多重抗藥性因素及困難個案診治」。以下即分別說明各主題之具體執行研究結果與討論：

■ 研究主題一：建置結核病完整資料庫及分析應用

其子計畫之執行重點結果及討論分述如下：

1-1 收集個案與接觸者臨床表現、治療反應，分析、追蹤與監控個案復發與再發感染情況（詳見附錄 p1）

(1) 納入臨床個案資料、檢體、菌株：

截至 2011 年 12 月 20 日止，共納入 232 個肺結核患者和與 169 個接觸者。各執行醫院個案資料登錄於 Microsoft Access 2003 檔案，由各執行醫院研究助理負責。臺大醫院及亞東醫院由吳慧如、黃苓娟、許瓊方共同負責，高醫由楊玉芳負責。

這 232 個結核病患者的年齡組成/性別，主要都是 65 歲以上的病人 (39.2%)；男性的比例在 44 歲以下的族群較低，而 45 歲以上，則男性明顯高於女性。在其他系統性疾病方面，納入研究的受試者最常見的是糖尿病 (46, 19.8%)、惡性腫瘤 (35, 15.1%)、慢性腎衰竭 (10, 4.3%)、以及自體免疫疾病 (9, 3.9%) 這四種。結核病個案的惡性腫瘤部位分佈如圖一。在這 232 位肺結核病患當中，一共有 48 (20.7%) 位同時有肺外病灶。臨床症狀多為呼吸道症狀，其中以咳嗽最多，佔了 60.8%。至於全身性的症狀，則以發燒為最多 (24.6%)。

患者治療之前痰液抗酸性塗片價數中，塗片陽性患者佔 40.1%。對於第一線抗結核藥物的抗藥性-含有任一抗藥的菌株佔 15.5%，目前並無多重抗藥性結核菌。胸部 X 光顯示，具有兩側病灶的患者佔了兩成，但納入個案中，存在開洞病灶的個案不多，僅僅 4.3%。截至 2011 年 12 月 20 日止，所有加入計劃的結核病個案，實際收集到血液檢體共 1115 個，平均每人收集 4.8 個血液檢體。而抗結核藥物治療過程中，副作用相當常見，其中最多的是皮膚症狀，超過四分之一的人會發生，其次腸胃不適，大約六分之一。若依據美國胸腔科醫學會與感染症醫學會的診治指引之定義，有 10.3% 的患者發生藥物性肝炎。

(2) 基因多型性分析：

目前針對藥物代謝基因多型性進行分析中。初步研究結果顯示，*N-acetyltransferase* 與藥物性肝炎的發生有關，但 *Cytochrome P450 2E1* 則與藥物性肝炎的發生無關。

(3) 接受體表現情況：

目前針對周邊血液單核球細胞表面 TLR2 的表現量分析，已完成 87 位結核病人及 90 位家屬之分析。初步研究結果顯示，*Toll-like Receptor 2* 與結核病人治療後存活有關。

■ 研究主題二：研發結核病診斷工具與低副作用藥物

本主題共包括四個子題，其子計畫之執行結果及討論分述如下：

2-1 應用核酸質譜儀與免疫磁減量技術發展快速偵測結核菌及其抗藥性之新技術（詳見附錄 p19）

核酸質譜儀技術部份：

1. 成功設計結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌及其抗藥相關基因(*rpoB*)突變特異性引子與探針，且經測試皆具高度特異性。
2. 成功設計與第一線用藥及第二線用藥抗性相關基因突變之質譜儀偵測探針。
3. 成功建立核酸質譜儀鑑定結核分枝桿菌，並定量出最低偵測靈敏度為小於十拷貝數。
4. 成功由臨床病人培養出結核菌株中鑑定出抗藥基因突變。

經由比對、分析所有蒐集之結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌、檢體來源可能的污染菌以及結核分枝桿菌抗藥基因之核酸序列，找出其具特異性及保留性之核酸序列，設計出具有專一性及敏感性的引子及探針，以核酸質譜儀偵測技術為基礎，建立了較傳統方法更為快速、靈敏度高的偵測平台，希望可以早期得到結核分枝桿菌感染結果之資訊，才能掌握防疫先機。目前針對由病人檢體獨立培養出的菌株檢體，結核分枝桿菌的偵測靈敏度可達近 10 個拷貝數左右。未來目標希望於未被感染的痰液檢體中加入已知濃度之連續稀釋的分枝桿菌，並平行地以傳統方式培養相同稀釋量的該分枝桿菌，以確認添加入痰液檢體中的菌量，以更精確地去評估此方法的靈敏度。

在抗藥性基因的偵測上，我們總共建立了六個第一線與第二線用藥抗性相關的基因突變，將來可以有效區分多重抗藥性與廣泛抗藥性之結核分枝桿菌，可在第一時間掌握病人感染菌株的特

性，對疾病防治與醫療策略的採用具有高度價值，我們也已經著手申請專利。而在冷凝液檢體的平台建立方面，所收集的 35 個病人中，均未測得結核分枝桿菌，此與臨床結果不符，須再進一步確認檢體收集的方式是否確實，以及測試萃取核酸方法是否需要再做修正，不過因為呼出冷凝液中自由態的核酸含量相當少，偵測具高度困難，可以說是目前延伸計畫執行上遇到最大的困難。最後，對於本平台日後在國人防疫上可提供有力的檢測方式外，亦可促進生技發展、產學合作，相較其他分子檢測方法，本平台最有利的兩大特點，其一為高敏感度；其二為多基因檢測。多基因檢測可以大幅降低檢測成本，我們亦針對此平台之成本進行初步估算，在未考量人事以及機器成本的前提下，本平台單一反應管的檢測成本約為 800-1000 元左右(詳細分析請見附錄子計畫 P.53)，如以目前的檢測設計，單一病患將進行兩反應管的多基因檢測，成本約為 1600-2000，如因應再現性考量進行重覆測試，則成本約為 3200-4000，對於其他分子生物學多基因檢測之成本則具有相當大的競爭力，值得進行產學合作技術轉移。

免疫磁檢量技術部分：

- 1.結核病偵測標的選定：針對 *M. tuberculosis* H37RV 抗原區 (*esat6* 和 *lhp*) 所選殖的片段，單獨的 *lhp* 與 *esat6/lhp* 能正確的在 pET28 表現系統中表現，而單獨 *esat6* 卻不行(結果未呈現)。實驗中 IPTG 誘導 ESAT6 表現的過程中，會影響到 *E. coli* BL21 的生長，使破菌後無法取得足夠濃度的蛋白，而 ESAT6/CFP10 重組蛋白則不會產生影響，若想純化 ESAT6 需要更換一個不受 ESAT6 影響的表現系統。在計畫中我們針對「IFN-r」與「ESAT6/CFP10 抗體」為兩種檢測標的，分別利用 ELISA 與磁減量兩種檢測平台進行測試。
(1)ELISA 平台:在自行建構之 IFN-r ELISA 平台上以 IFN-r 標準品製作標準曲線，並確認 ELISA 平台的效能。同時建構 ESAT6/CFP10 抗體 ELISA 平台上以 protein A 純化之 ESAT6/CFP10 多株抗體為標準品製作標準曲線，並確認 ELISA 平台的效能。此外，由病人血清為 ESAT6/CFP10 抗體實際檢測樣品，病人血清經 ESAT6/CFP10 重組蛋白處理刺激後之血清為 IFN-r 實際檢測樣品。針對 ESAT6/CFP10 抗體或 IFN-r 的實際 ELISA 檢測中，可以發現實驗中兩個 ELISA 平台對於 positive 或 negative 的樣品無法區分出來。推測其可能的原因，可能是因為樣品的濃度，原本在 QFT 的檢測中所使用的血清僅為 2 倍稀釋，但因為樣品珍貴且計畫目前僅為探討磁減量可行性，所以將血清稀釋 100 倍使用，因此大

大降低檢體的濃度使其低於 ELISA 平台的極限，導致無法區分出來 positive 與 negative 的樣品。

(2)磁減量平台:已完成在 IFN-r 磁減量平台上以市售之 Anti human IFN-r pAb 去偵測 IFN-r，並以標準品建立其標準曲線；Anti human IFN-r mAb 仍依計畫進行中。目前以鍵結 IFN-r 多株抗體之奈米磁珠進行磁減量偵測時，發現 IFN-r 在 10pg/ml 時，IMR 是 0.7%，而 NTC 樣本為 0.68%+/- 0.01%，所以我們可以得知磁減量平台的最低偵測極限在 10pg/ml；較於 QuantiFERON 的最低偵測極限 75pg/ml 來的更為靈敏。但由於本次進行 IMR 的樣品濃度較 QFT 低 50 倍，因此 IMR 的檢測林敏度很容易大幅提升。在 ESAT6/CFP10 抗體磁減量平台上以純化之 ESAT6/CFP10 重組蛋白去偵測抗體，並以 protein A 純化之多株抗體建立其標準曲線，目前仍持續進行中。

2-2 開發抗結核複方製劑及應用代謝酵素抑制劑研製低肝毒性之 Isoniazid、Rifampin、Pyrazinamide 抗結核藥物 (詳見附錄 p85)

新穎抗結核病複方製劑之研究與開發

1. 已開發多種四合一抗結核病藥物製劑，並選擇較具潛力配 (RIP1013T)方與國內符合 PIC/S 藥廠合作，完成 biobatch 製造並生產可提供人體試驗之臨床用藥，此臨床用藥亦符合製藥相關規範。(因藥廠於 8 月 12 日至 8 月 26 日接受美國 FDA 查核，以致 biobatch 製造略受延誤)
2. 各處方製劑均完成相關藥化性質測試(包括含量分析、均一度試驗、崩散試驗、安定性分析及溶離度試驗等)。
3. 選擇最具潛力配方(RIP1013T(Qstar))於今年 11 月份完成 40 人次人體臨床試驗。
4. 預計 12 月分完成分析及統計。本案已於 100 年 8 月 29 日至 TFDA 進行新藥查驗登記。

開發無肝副作用抗結核藥物 Isoniazid 製劑

1. 併用 HUCHE033 360 mg 於健康受試者體內有抑制 amidase 活性之作用，為降低 INH 肝毒性可能機轉之一。
2. 同時併用 HUCHE033 360 mg 及 HUCHE010 110 mg，並不會影響 INH 原型藥之吸收，但在體內可能有抑制 amidase 使得其毒性代謝物減少，並有加乘的作用。未來在持續進行無肝副作用 isoniazid 臨床試驗時，此處方為目前最佳的選擇。
3. 單獨或同時併用 HUCHE033 360 mg 及 HUCHE010 110 mg 會造成 rifampin 的吸收小幅降低，故進行下一階段劑型設計時，宜調整

rifampin 之劑量。

應用代謝酵素抑制劑解決抗結核藥物 Pyrazinamide 肝副作用之研究

1. 本計畫利用常用賦型劑及食品已知成份篩選體外有效 amidase 抑制劑 HUCHE033，試驗證實體外有效 PZA 相關代謝酵素抑制劑 HUCHE033 於健康受試者能有效降低 PZA 毒性代謝物 5-OH-PA (ratio of plasma AUC with 5-OH-PA / PZA: 5.92 ± 1.13 to 3.60 ± 0.43 , $p < 0.01$) 與 PA (ratio of plasma AUC with PA / PZA: 28.23 ± 3.60 to 21.35 ± 3.20 , $p < 0.01$)比率，顯示 HUCHE033 於人體內仍具抑制 amidase 效果，且可降低 5-OH-PA/PZA 或 PA/PZA 等毒性代謝物比例，推論 HUCHE033 在人體內可能具降低 PZA 藥物肝毒性潛力；本實驗室研發之 amidase 抑制劑皆為本實驗室已申請台灣專利(申請號:ROC/097141522)之成份，普遍富含於食品、天然物之成分或常用之賦型劑，其安全性無虞。
2. 分析 107 位 TB 患者尿液檢品，經藥歷資料確認是否服用 PZA 後，未服用 PZA 與檢品藥物濃度低於偵測極限共排除 22 位，而服用 PZA 且具肝毒性有 24 位，無肝毒性有 61 位，結果經原藥物 PZA 規格化後，顯示服用 PZA 且為肝毒性患者尿液中 5-OH-PA 比例明顯高於無肝毒性患者(5-OH-PA/PZA: 209.2 ± 78.5 to 34.0 ± 29.7 , $p < 0.005$)，顯示服用 PZA 有肝毒性患者尿液中 5-OH-PA/PZA 比例，會隨著肝毒性嚴重性而增加，即有肝毒性患者 PZA 可能被代謝較多，導致尿液中含量減少，未來可持續擴增 TB 患者收案增加養本數。
3. PZA 另一代謝酵素 xanthine oxidase (XO)具基因多型性(gene polymorphism)，對其酵素活性會產生顯著影響，在 XO 酵素活性高的個體中，患者易生 Xanthinuria 症狀的風險；相對在 XO 酵素活性低的個體中，氧化反應慢，使得 PZA 累積在體內而導致毒性或副作用，造成此差異的主要原因係因基因型變異所導致，因此，瞭解 XO 酵素基因型於國人的表現在治療國人結核病上是有其一定程度的必要性。目前已分析完成 167 位 TB 患者基因試樣，已分析完成 XO 5 種 SNP 之結果，發現有 3 種單一核苷酸發生變異(SNP)，由 TB 患者 XO 基因型與 PZA 藥物肝毒性關係已找到 SNP rs1884725、rs2295475 與 PZA 藥物引起肝毒性風險比(Odds ratio)各是 5.372 ($p = 0.002$)、12.964 ($p = 0.000$)有顯著關係，顯示 XO 基因多型性與 PZA 肝毒性有程度上之關聯性。未來可針對上述 3 個 SNP 持續增加收案數，或針對 XO 酵素活性區或基質催化結合區序列，找尋其他可能與 PZA 藥物副作用相關之 SNP 進行分析，甚至可進行 XO 代謝酵素基因型與表現型之分析 (genotype/phenotype correlation)。

以代謝酵素基因型預防 Isoniazid 及 Rifampin 所產生之副作用

1. 以過去之研究為基礎，進一步發現若帶有 7 個 NAT2 單一核苷變異其中任一個 SNP 之 TB 病人，其服用抗結核藥物誘發肝毒性的風險，顯著高於未帶這 7 個 SNPs 之 TB 病人達到 1.8 到 10.3 倍。
2. 依上述單一核苷變異進行任兩個以上基因型之排列組合後，建立顯著提高風險之高風險基因型組合，結果顯示在整體的結核病患者族群中有 12~29% 的 TB 患者，是屬於服用抗結核藥物誘發肝毒性的高風險群。在高風險族群患者中，有 32~37% 的比例會發生肝毒性副作用，顯著高於低風險族群的發生率(12~16%, $p < 0.001$)。
3. 以前瞻性試驗的方式，將新接受治療之結核病患者納入追蹤觀察，以驗證高風險基因型預測肝副作用發生率之情形，結果顯示帶有 rs1961456 * rs1799931 高風險基因組合之患者，發生肝副作用的比例顯著高於低風險族群(18.8% vs. 2.7%)，風險比亦高達 8.3 倍 ($p < 0.05$)。此結果與過去累積之研究成果相符，顯示以 rs1961456 * rs1799931 基因型組合預測 TB 患者因抗結核藥物誘發肝毒性的風險性具有代表性。
4. 前瞻性臨床試驗亦發現帶有 NAT2 高風險基因型組合之患者，在接受抗結核藥物治療過程中之血清轉胺酶 AST、ALT 之變化情形與低風險組有顯著的不同，進一步證實代謝酵素 NAT2 基因型與肝毒性發行情形有關。
5. 對使用含 INH 藥物之病人，應篩檢高肝副作用風險之代表性基因組合 rs1961456 及 rs1799931，若確定結核病患屬高肝副作用風險病患則應密切觀察其肝功能變化，另外，也可使用低肝副作用 INH 複方，避免病人因肝副作用停藥而增加抗藥性的風險。
6. 以代謝酵素基因型預防 isoniazid 及 rifampin 之副作用發生之研究：結合目前為止累積之研究成果發現，若帶有 NAT2 rs1799931 及 rs1961456 任兩個 Allele 變異之高風險族群發生藥物肝毒性之風險比為低風險組之 4.1 倍，並佔全體結核病患之 26%，顯示在國人中約有 1/4 以上的結核病患者係屬於服用抗結核藥物易引發肝毒性的高風險族群，而在高風險族群中肝毒性的發生率為 36%，顯著高於低風險患者之 12%，本年度執行前瞻性試驗納入 59 名結核病患之研究成果亦證實預測結果具高度一致性。

2-3 利用奈米科技研發新劑型抗結核藥物 (詳見附錄 p175)

目前的實驗結果顯示，OSAP 的包覆未如預期地增加 SiO₂ 奈米粒子對巨噬細胞的吸收度，一個可能的解釋是因為 OSAP 的包覆增加了 SiO₂ 奈米粒子的表面電位。當 OSAP 和 SiO₂ 的混合比例從 1:1 上升到

8:1 時，奈米粒子的表面電位則從-25 mv 上升至-13 mv。一般來說，帶負電荷的奈米粒子具有較佳的細胞吸收度，OSAP 的包覆降低 SiO₂ 奈米粒子表面的負電位，導致較差的細胞吸收度，因此在後來的奈米藥物實驗中不再使用。另一方面，高達 95% 的巨噬細胞能有效地吞噬 SiO₂ 和中孔洞 SiO₂ 奈米粒子進入胞內，而且對於巨噬細胞和 BEAS-2B 支氣管表皮細胞證明是無毒的，顯示這二種奈米粒子是有效而安全的奈米藥物載體。

在比較 INH 奈米藥物於細胞內外的濃度實驗中，二種 SiO₂ 奈米粒子皆比 free INH 具有更佳的[胞內/胞外]的 INH 吸收比值，尤其是 SiO₂ 奈米藥物展現出超高的[胞內/胞外]的吸收比值，足足比 free INH 高出 133 倍之多。主要原因是因亞胺鍵結在細胞培養液的中性環境中不易斷裂，只有當進入巨噬細胞內的酸性環境中才大量開始裂解。另外，由於中孔洞奈米藥物是利用物理吸附原理將 INH 吸附在奈米粒子的孔洞內，但目前粒子表面缺乏覆蓋層，所以經過超音波震盪懸浮後，許多 INH 被釋放至培養液中，導致培養液中的 INH 濃度上升，所以[胞內/胞外]的吸收比值較 SiO₂ 奈米藥物低了許多，但仍比 free INH 高出 14 倍。有鑑於中孔洞 SiO₂ 奈米藥物是利用物理吸附原理，並未改變原始藥物的化學性質，也無有機溶劑殘留或中間產物純化的問題，製備程序上較為簡單且符合新劑型法規的要求，若將來使用生物可分解的薄膜分子(如 bioglass)，將 SiO₂ 奈米孔洞表面包覆起來，將可控制 INH 的釋放達數星期之久，成為長效型的抗結核菌的奈米化藥物。

2-4 建立增強 *SPI10* 基因所調控的免疫力之藥物篩選平台（詳見附錄 p198）

本計畫以細胞影像分析系統作為平台進行高通量篩選改變細胞內生物活性的化合物庫。在這約 600 個化合物中，包含一些會引起細胞死亡的化合物，但不包含會殺死結核分枝桿菌或抑制結核分枝桿菌生長的抗生素。主要的原因是因為結核分枝桿菌會對抗生素產生抗藥性，而用增強宿主細胞免疫力的方法來對抗結核分枝桿菌，由於這些化合物是以宿主細胞為作用標的，如此可能可以避免結核分枝桿菌產生抗藥性。所以，我們的目的是希望能找到作用在宿主細胞的標的進而增強細胞免疫能力的化合物，藉此來對抗結核分枝桿菌。

為了建立分析系統的最佳測試條件，我們目前已經回溶與分裝 cisplatin 及 doxorubicin 這兩種會引起細胞死亡的化合物，並以此兩種化合物分別處理細胞來進行檢測條件的優化。當以 cisplatin 處理細胞，cisplatin 的濃度從 0.6 μ M 增加到 0.12 μ M 時，可看到代表細胞

凋亡 (apoptosis) 的指標酵素 caspase-3 的活性明顯的增強 (即綠色的螢光訊號增強)。但 cisplatin 的濃度若持續增加 (3 μ M 增加到 15 μ M), caspase-3 的活性卻會降低。而用 doxorubicin 處理細胞時, caspase-3 的活性則隨著 doxorubicin 濃度的增加而持續的加強, 亦即表示細胞凋亡現象持續的增多。Cisplatin 濃度的增加引起細胞凋亡程度先上升後下降的現象可能表示這些 Cisplatin 處理的細胞進行不同死亡模式的轉換。亦即從 apoptosis 轉換為 pyroptosis 或 necrosis。由於目前市面上沒有合適的試劑組可以在單一樣品上同時進行多個不同細胞死亡模式的測試。所以, 我們目前除了將持續進行高通量的篩選之外, 也將嚐試去開發出可以在單一樣品上同時測試兩個, 甚至更多個不同細胞死亡模式的試劑組。如此一來, 我們在進行化合物的篩選時, 可以同時得知這些化合物對細胞會產生何種的死亡模式。

如上所述, 我們正嚐試去開發出可以在單一樣品上同時測試兩個, 甚至更多個不同細胞死亡模式的試劑組。而此一試劑組將首先包含能同時檢測 apoptosis 及 pyroptosis 兩種不同細胞死亡模式的試劑。我們目前已選定這兩種不同細胞死亡模式的指標酵素 caspase-3 及 caspase-1, 藉由檢測它們的活性來得知細胞產生 apoptosis 及 pyroptosis 的程度。我們已合成有螢光標記的 caspase-3 及 caspase-1 受質 (substrate) 來作為檢測它們的試劑。而要同時使用 caspase-3 及 caspase-1 這兩個酵素的受質, 則需要用不同的螢光來標記它們, 以進行螢光訊號的偵測。而這兩個用來標記的螢光, 彼此之間以及與用來進行篩選實驗所用的細胞株之間不能產生訊號的干擾 (我們所使用的細胞株會產生綠色的螢光), 而且要考慮到降低成本以利將來的高通量篩選。

■ 研究主題三：了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子

本主題共包括二個子題, 其子計畫之執行結果及討論分述如下：

3-1 比較兩種預防性治療處方對於結核病家庭接觸者、密切接觸者的預防成效 (詳見附錄 p213)

家庭接觸者的潛伏結核感染, 經由研究結果可以發現, 針對家庭接觸者進行 TST 或 QFT-GIT 檢測, 兩者雖有明顯相關, 但是前者的陽性率偏高, 可能的理由是研究的族群大多數是 25 歲以上的成人, 在這些人未成年時的公共衛生政策是出生後施打第一次卡介苗, 並且在小學時追打一劑。這樣的公共衛生政策, 會因為結核菌素與卡介苗之間的 cross reactivity 而造成 TST 的偽陽性增高。但由於觀察的時間只有不到半年, 目前並無接

觸者發生活動性結核病，也因此無法判斷究竟是 TST 還是 QFT-GIT 的預測比較準確。

如果以 QFT-GIT 陽性當成是確定為潛伏結核感染的人，那麼，怎樣的公共衛生政策，才是最經濟、最具有成效的篩檢方式呢？第一種選擇，是針對所有的接觸者，例如 1,000 人，全面以 QFT-GIT 篩檢，假設這樣的成本，一個人是 x ，總共 $1000x$ ，可以篩出 $1000 * (24/104) = 231$ 個潛伏結核感染的人；第二個選擇，是使用 TST 針對所有的接觸者先篩檢一次，如果有 1,000 人，成本是 $1000y$ ，可以篩出 $1000 * (61/104) = 587$ 個 TST 陽性的接觸者，之後再以 QFT-GIT 第二次篩檢，成本為 $587x$ ，可以篩出 $587 * (21/61) = 202$ 個 TST 以及 QFT 接為陽性的接觸者，總共成本為 $1000y + 587x$ 。但是，確可能漏掉 $(1000 - 587) * (3/43) = 30$ 個 TST 陰性但是 QFT-GIT 陽性的潛伏結核感染者。以現在的實際成本，一次的 TST 檢測約為 80 元，而 QFT-GIT 約為 800 元。在第一個選擇中，診斷一個潛伏結核感染的人需要 $1000 * 800 / 231 = 3463$ 元，但不會遺漏任何一個潛伏結核感染者。而在第二個選擇中，診斷一個潛伏結核感染的人需要 $(1000 * 80 + 587 * 800) / 202 = 2721$ 元，但卻會遺漏任何 30 個潛伏結核感染者。後者比較符合成本效益，但是卻會有漏網之魚。究竟選擇哪一個篩檢流程比較妥當，上需要更多的研究以支持。

根據文獻報告的預估用 isoniazid 或是 rifampin 進行潛伏結核感染之預防性治療過程中，引起肝功能指數上升的機率為 0.2 ~ 1.2%。但目前接受 isoniazid 治療的 5 位家庭接觸者中，有 4 位（80%）產生肝毒性，發生之比例明顯高於文獻資料。由於這 4 位接觸者均無系統系疾病，也無 B、C 型肝炎病毒或愛滋病毒感染，同時治療前肝功能也都正常，發生肝炎之前也沒有特殊藥物或食物上的暴露，因此高度懷疑都是藥物性肝毒性。發生肝毒性的比例如此之高可能的原因有下列幾個：

1. 研究中未進行 N-acetyl transferase 2 基因行鑑定，因此無法排除因為基因上的特異性而發生藥物性肝炎。
2. 年紀過大。
3. 研究中並未登記受試者生活習慣、工作狀況、以及睡眠狀況。受試者可能長期熬夜、工作壓力大...
4. 其他未知之肝病。由於投藥之前並未進行肝臟超音波檢查，可能有其他肝病沒有被診斷出來

不過，這樣的研究結果，確實也讓我們了解，如果要在比較大的年齡層進行預防性治療，光光是投藥前的肝功能檢測、病毒血清學檢測，可能都不足以避免肝毒性的發生，此外，應該考慮進行藥物性肝炎相關基因型檢測。

各單位密切接觸者陽性率之比較

本研究密切接觸者總陽性率為 36.12%。三處收案地點各別之陽性率由高至低排序：花蓮縣某醫院附設長照機構(40.8%)，其次為台北市某學校(35.85%)，最低為花蓮縣某醫院(16%)。代表群聚感染事件接觸者可能重複暴露至多個結核病患，致使其感染機率較高。由於長照機構之接觸者可歸類為 24 小時群聚生活團體，住民們生活作息皆一起行動，故其陽性率最高。2010 年德國 Roland 等學者之研究，將痰培養確診之結核病患接觸者暴露時間分為 ≤ 8 、 $8\sim 40$ 及 > 40 小時，以暴露時間 ≤ 8 為對照組，結果顯示暴露時間 $8\sim 40$ 及 > 40 小時者其 QFT-GIT 呈陽性的風險分別為對照組的 1.8 倍、5.7 倍，證實與指標個案接觸時間愈長，則結核感染之風險愈大。

花蓮縣某醫院附設長照機構 QFT-GIT 陽性率 40.52% 高於 Ferrara 學者等人於義大利某療養院 QFT-GIT 陽性率 22.2% 及 Stamatis 學者等人於希臘某療養院 TST 陽性率 31.7%。療養院與長照機構之住民年齡偏高，人體免疫力隨著年齡增加而降低，致使老年人為結核感染高危險族群，而本研究之陽性率皆高於義大利與希臘之研究，可能因為此單位於兩年間三個病房中陸續有十多位住民被確診為結核病，導致其他住民可能重複暴露結核病確診個案。

台北市某學校 QFT-GIT 陽性率 35.85% 略高於 Kekkaku 學者等人於日本某大學 QFT-G 陽性率 32.7%。台北市某學校結核病個案集中於 A 及 B 系學生，同班同學長時間與結核病患處在密閉式空間上課，加上個人衛生觀念不足，可能於發病初期未攜帶口罩，諸多因素使得 QFT-GIT 陽性率較高。

花蓮縣某醫院收入家庭接觸者陽性率 16% 略低於國內中部地區多重抗藥性結核病患之家庭接觸者 QFT-GIT 陽性率 19%。花蓮某醫院家庭接觸者陽性較低，可能是由於本研究中家庭接觸者以家族為主，除了與指標個案同戶居住的家人外，也收入其他未與指標個案同戶居住的家人。未與指標個案同戶居住的家人結核感染機率較低，因而稀釋整體家庭接觸者的陽性率數據。

Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性之危險因子探討

接觸過的結核病人數及抽菸習慣為 Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性之危險因子。

接觸過的結核病人數

本研究中接觸者每多暴露一位結核病患，則 QFT-GIT 呈現陽性的機率即增加 72%。由於本研究收入兩起結核群聚感染事件之接觸者，兩個單位結核病個案數分別為 16 位及 8 位。群聚感染之接觸者易重覆暴露不同之結核病患，若再加上通風系統運作不佳、空間擁擠等因素，導致其受到感

染的機會大幅增加。兩起結核群聚感染事件中之某單位，因其為 24 小時群聚生活，且住民大部分為精神病患，待護理人員察覺其症狀時，可能已過一段時間。於具感染力期間，除了接觸至許多住民外，亦可能傳染照護及醫療人員。接觸者暴露的結核病患數越多，代表暴露結核菌的時間及頻率增加。Roland 等學者針對 1794 位接觸者之研究，將接觸者與結核病患接觸的時間分為 40~60、60~100、100~200 及大於 200 小時，結果顯示累積接觸時間愈長，QFT-GIT 呈陽性的風險愈高，接觸時間與 QFT-GIT 陽性具有相關性。同一研究團隊隔年發表之研究亦有相似的結果，接觸時間分為 ≤ 8 、8~40 及 > 40 小時，各組別 QFT-GIT 陽性率分別為 21.1%、31.8%、48.5%，隨著組別增加而上升，接觸時間與 QFT-GIT 陽性具相關性。此外，Moran 等人之研究依照暴露程度將接觸者分為家庭接觸者、密切接觸者及偶然接觸者，將偶然接觸者列為對照組別，結果顯示家庭接觸者結核病發生率為偶然接觸者的 8.47 倍，密切接觸者結核病發生率為偶然接觸者的 2.53 倍。

抽菸習慣

目前或以前有抽菸習慣者 QFT-GIT 呈現陽性的機率為沒有抽菸習慣者的 3.02 倍，代表有過抽菸習慣者其受到結核感染之機率較高。國內林氏等人之前瞻性研究藉由國家健康調查資料結合健保資料庫評估活動性結核病之發生率，結果顯示目前有抽菸習慣者其結核病發生率為未有抽菸習慣者的 1.94 倍，此外研究亦發現隨著每日抽菸量、抽菸年數及一年抽菸的包數增加，活動性結核病發生率亦跟著上升。南韓 Jee 等學者針對 1,294,504 位民眾執行前瞻性研究，依照其抽菸習慣評估各組別結核病之發生率、死亡率及復發風險，結果顯示男性抽菸者結核病死亡率為未抽菸者的 1.6 倍，且目前仍有抽菸習慣之男性其結核病發生率為曾有抽菸習慣男性的 1.4 倍。女性部份，抽菸者結核病死亡率為未抽菸者的 1.6 倍，抽菸習慣則與結核病發生率無相關。印度 Prasad 等學者以結核病患為研究對象，另外選取健康的人為對照組，於校正相關干擾因子後，抽菸者其日後發展為結核病的風險為未抽菸者的 3.8 倍。上述多篇文獻皆顯示抽菸習慣與結核病之相關性。此外，國內溫氏等人之研究顯示抽菸者其結核病死亡率的風險為未抽菸者的 8.56 倍，若抽菸者戒菸，則抽菸者結核病死亡率的風險可減少 65%，由此可看出吸煙對於結核病病情之影響。

3-2 結核病高危險族群，包括醫護人員、愛滋病毒感染病患、慢性呼吸衰竭病患、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物（anti-tumor necrosis factor blockade）治療之自體免疫疾病患者、血液及腹膜透析病人、長期照護機構、第二型糖尿病患者、以及肺癌病人之潛伏結核感染追蹤調查（詳見附錄 p253）

1. 潛伏性結核菌感染在 210 位平均年齡為 36 歲的 HIV 病毒感染病患的比例約 6.8%。14 位 ELISPOT 陽性且非結核菌感染病患因目前健康狀況良好，對接受潛伏性結核菌感染預防藥物投予的意願不高 (0%)。國內結核病發生率仍偏高，表示病患仍有可能自外界感染結核病，是否 ELISPOT 陰性且非結核菌感染病患在接下來的追蹤中有很高比例陽轉，ELISPOT 對活動性肺結核的敏感性為 100% (3/3)。
2. 慢性呼吸衰竭患者至民國 100 年 12 月 16 日止，共 115 名病患簽署同意書進入本研究，其中 111 名患者已有丙型干擾素釋放測試結果。此 115 名慢性呼吸衰竭患者其平均年齡為 68.3 歲，標準差為 16.4 歲，男女比例為 65/50。呼吸衰竭原因最多為肺部感染(n=60, 52.2%)，其次為中樞神經系統疾病(n=24, 20.9%)。65 名(56.5%)病患於本次住院中接受氣切手術，6 名(5.2%)病患則在本次住院前已接受過氣切手術，44(38.3%)病患則未接受氣切手術。丙型干擾素釋放測試的結果為 68 名(59.1%)為陰性(negative)、19 名(16.5%)為陽性(positive)，另外 28 名(24.3%)則為不確定反應(indeterminate)。19 名丙型干擾素釋放測試陽性患者中，6 名目前仍住院進行呼吸器脫離訓練，2 名轉呼吸照護病房，1 名轉護理之家，10 名返家做後續照護。結至 12 月 16 日止，共有 100 名病患已接受完整呼吸器脫離訓練及評估，其中 66 名(66.0%)成功脫離呼吸器，34 名(34.0%)呼吸器脫離失敗。若以丙型干擾素釋放測試結果來分組(表一)，丙型干擾素釋放測試呈陽性者共 16 人，其中 11 人成功脫離呼吸器，成功率為 68.8%；丙型干擾素釋放測試呈不確定者共 25 人，其中 13 人成功脫離呼吸器，成功率為 52.0%；丙型干擾素釋放測試呈陰性者共 59 人，其中 42 人成功脫離呼吸器，成功率為 71.2%。由此看出丙型干擾素釋放測試呈不確定者似乎較不容易成功脫離呼吸器。若以 logistic 迴歸來做多變相分析，年紀輕、血小板低下及丙型干擾素釋放測試呈不確定者為造成呼吸器脫離失敗之獨立因子。另外，針對丙型干擾素釋放測試呈陽性者做多變項分析，則呈現 BMI ≥ 24 Kg/m² 為可能之預測因子 (OR 10.45, 95% CI 1.07-101.67, $p=0.04$)。
3. 由此一多中心之觀察性研究顯示，臺灣類風濕性關節炎患者總共收案類風濕性關節炎患者 167 人，其中有 101 人接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療，參加病人之背景資料如。此 167 人收案受試者皆接受了第一次的丙型干擾素釋放試驗(IGRA)檢測。若以 IGRA 陽性反應作為潛伏性結核感染之指標，則此一族群有 19 人(11%)為潛伏性結核感染患者，陰性反應者有 133 人(80%)，其餘(9%)為不確定性

(Indeterminate)。截至 2011 年 12 月報告書寫日期為止，受試者追蹤期之中位數約為 6 個月，仍未有活動性結核患者被發現。由於尚未有活動性肺結核患者產生，故無法計算風濕免疫疾病病人活動性結核病的發生率。接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療者(N=101)，IGRA 陽性率為 11% (11 人)；而未接受此治療者 IGRA 陽性率為 12% (8 人)，兩者無統計學上之意義。多變數分析顯示年齡是唯一影響 IGRA 盛行率之因子。

4. 長期透析患接受 QuantiFERON—TB(克肺癆)的篩檢共 234 名，其接受篩檢之個案，平均年齡為 60 歲，男性佔其中 114 位(49%)，平均已接受透析年齡 4 年，共有 125 人為接受腹膜透析，另 109 為接受血液透析。克肺癆的篩檢結果為陽性人數佔 42 位(17.9%)，陰性為 184 位(78.6%)，而另外 8 位(3.4%)結果為 indeterminate。在扣去 indeterminate 結果反應個案後，陽性反應個案約呈現 18.5%。其中並無活動性結核病患者。在目前已半年的追蹤之下，無個案發生活動結核病的發生。針對不同洗腎模式的個案，接受血液透析的病患與接受腹膜透析個案，在克肺癆篩檢結果陽性反應比例是相似，但是相較之下。若是以克肺癆篩檢結果來作分類比較，可發現測驗陽性的個案，基本特徵比其它結果組別有年紀較高($p = 0.020$)，也較常有慢性咳嗽以及 CXR 片任何的病灶表現，而其它在結核暴露史、抽煙、洗腎年齡等，都沒有顯著意義的差別。以多變數迴歸分析下，可發現只有年齡為唯一的有意義相關因子。
5. 本計畫發現第二型糖尿病人年齡超過 55 歲以上以及糖尿病發病年齡在 50 歲以上為潛伏結核感染之高危險群。接受 QFT-IT 檢測的 342 名個案中，男性共 186 人，佔 54.4%；女性共 156 人，佔 45.6%。檢驗結果 QFT-IT 陽性者共 101 人，佔 29.5%；陰性者共 241 人，佔 70.5%。已進行雙盲藥物治療者共 42 位，其中 1 位因過敏退出治療，另 2 位不願意繼續接受治療，目前實際接受治療人數為 39 位。其餘 QFT-IT 陽性者將陸續接受雙盲藥物治療六個月，並持續追蹤其後肺結核感染之情形。同時比較分析 QFT-IT 陽性與陰性者間的差異，在性別、體重、教育程度、罹患糖尿病時間長短、是否抽菸、是否曾罹患癌症、家族中是否有人曾罹患結核病、是否曾有肺結核病患接觸史及其每日睡眠時間長短等項目上二者間並無差異。最近三年內病人最高的糖化血色素值 (8.748 vs 8.610, $P = 0.596$) 及最近三年內平均糖化血色素值 (8.125 vs 7.987, $P = 0.498$) 在 QFT-IT 陽性與陰性兩組間也沒有差異。但在病人的年齡及糖尿病發病年齡的分析則可見 QFT-IT 陽性者與陰性者間有顯著差異 (表二、表三)。QFT-IT 陽性者平均年齡 56.27 歲，陰性者平均年齡 51.61

歲，統計上有顯著差異，P 值小於 0.001。若以 55 歲為分界，年齡在 55 歲以上 QFT-IT 陽性者共 68 人，佔 40.2%，陰性者共 101 人，佔 59.8%；年齡在 55 歲以下 QFT-IT 陽性者共 33 人，佔 19.1%，陰性者共 140 人，佔 81.9%，統計上顯著差異，P 值小於 0.001。QFT-IT 陽性者糖尿病發病年齡平均 49.34 歲，陰性者糖尿病發病年齡平均 45.58 歲，統計上顯著差異，P 值小於 0.001。若以 50 歲為分界，糖尿病發病年齡在 50 歲以上 QFT-IT 陽性者共 54 人，佔 38.6%，陰性者共 86 人，佔 61.4%；糖尿病發病年齡在 50 歲以下 QFT-IT 陽性者共 47 人，佔 23.3%，陰性者者共 155 人，佔 76.7%，統計上有顯著差異，P 值為 0.002。

6. 本研究發現在呼吸照護病房之工作人員及病患有較高之肺結核感染率，同時病患也有較高肺結核感染率。而工作人員痰液抗酸性染色法(AFS)陽性率均為 2.1%，非結核分枝桿菌感染(NTM)比率為 0%，但其中有一位確認為 TB infection (2.1%)。病患 AFS 陽性率平均為 21.7%，NTM 比率為 23.2%，且其中有一位確認為 TB infection (1.4%)。在 QuantiFERON 工作人員陽性率為 18.2%、病患為 25.0%；其中 5.7%病患檢驗結果為 Indeterminate。
7. 經由六家長照機構進行後續追蹤後發現參加過 INH 9 個月治療的個案絕大多數無通報狀況發生，而通報個案多為新入住或其他區域之住民。目前已完成 301 位受試者的檢查，截至目前有 50 人正在接受 INH 9 個月的治療，大致情形良好。
8. 針對肺癌病患結果部分，本研究目前已收案病人人數 79 人，有潛伏結核感染檢測結果的病人為 69 人，其中潛伏結核感染陽性的病人 24 位 (34.8%)，潛伏結核感染陰性的病人 35 位 (50.7%)，另有 10 位(14.5%)為無法判讀的結果。與潛伏結核感染陰性的病人相比，潛伏結核感染陽性的病人年紀較大(77.9±7.2 vs. 70.6±12.5 years old, p=0.013)，較高比例為抽煙者(70.8% vs. 42.9%, p=0.034)。此外，潛伏結核感染陽性的病人也有較高的比例為男性(70.8% vs. 62.9%)，較高比例有過去的結核病治療史(12.5% vs. 5.7%)，較少的比例有卡介苗疤痕(33.3% vs. 48.6%)。IGRA 結果為無法判讀的病人與有有明確判讀結果的病人相比，有較高的比例合併糖尿病(40% vs. 11.9%, p=0.025)，此外，男性的比例較高(90% vs. 66.1%)，較易合併慢性阻塞性肺病(30% vs. 13.6%)，但沒有呈現統計學上的差異，而其他如年齡、BMI 值、performance status 分數都是類似的。與潛伏結核感染陰性的病人相比，潛伏結核感染陽性的病人血中的 Interleukin-2 數值在 TB antigen - Nil 管與 TB - antigen 管都有明顯升高 (TB antigen - Nil: 197.8 ± 219.2

vs. -0.2 ± 4.3 IU/ml, $p < 0.001$; TB - antigen: 212.3 ± 225.3 vs. 10.5 ± 4.3 IU/ml, $p < 0.001$), 使用 TB antigen - Nil 管與 TB - antigen 管的 interleukin-2 數值來診斷潛伏結核感染的 area under curve (AUC) 是 0.945 與 0.993。

9. 在 56 位 TB 暴露之醫護人員中，共有 8 位 IGRA 為陽性，其中 3 位於第一次檢驗即為陽性，5 位於追蹤後轉為陽性；估計暴露後產生 seroconversion (潛伏性肺結核) 的機會為 8/56-5/53 之間 (14.29%-9.43%)。相較於新進員工即為潛伏性肺結核的盛行率為 7/120 (5.83%)。

■ 研究主題四：探討結核病抗藥性之相關臨床因素及困難個案診治

本主題共包括四個子題，其子計畫之執行結果及討論分述如下：

4-1 抗結核藥物肝傷害的生物標記及療程中發生肝炎患者之不同加藥流程的成效比較，並進一步針對具嚴重肝硬化病患之二線抗結核藥治療處方探討 (詳見附錄 p430)

1. 我國結核病病人約有 26% 發生治療中肝炎(男性約 24%，女性約 30%)。治療中肝炎發生時，肝指數(ALT)之最高值在男性平均約為正常值上限之 4 倍，在女性平均約為正常值上限之 2.7 倍。細胞激素中，IL-10、MCP-1 與 TNF- α 之上升與 ALT 之上升較有平行之關係，IL-6、IL-17 與 IFN- γ 之上升與 ALT 之上升較無平行之關係。與抗結核藥物之代謝可能有關之基因研究中，pregnane 基因與 CYP1A1 基因之 SNP 究竟與抗結核藥物肝傷害之發生有無關係，目前因病例數目尚少，還難以斷定。CYP1A1 是 cytochrome P450 system 之中的一種酵素，與雌激素(estrogen 即 E1, estradiol 即 E2) 之代謝有重要關係。由於在前三年之研究過程中，我們發現了我國女性發生抗結核藥物性肝炎之風險，是男性的兩倍，因此我們開始研究，CYP1A1 基因之多型性與抗結核藥物性肝炎之間的關係。結果顯示，CYP1A1 基因之基因型為 TC 者，發生抗結核藥物性肝炎之風險似乎較高，雖然目前在統計學上尚無意義，也還無法解釋女性發生抗結核藥物性肝炎風險較高之現象，我們仍將繼續研究。因此，血中細胞激素之濃度，以及 pregnane 基因、CYP1A1 基因之 SNP 究竟能否成為抗結核藥物性肝傷害之生物標記，還需做更多病例之研究才能得到結論。
2. 由於在接受 3、4 種抗結核藥物之病人尋找肝炎之 biomarkers，的確太複雜，不易找到有用的 biomarkers。以後若有機會，當嘗試在 LTBI 接受治療之族群中研究，只是該族群發生治療中肝炎之機率很低，較不容易收到足夠之案例。

3. 每日篩檢於研究機構檢測肝功能的病患，發現共有 3642 人次抽血檢測肝功能。其中 GOT/GPT 異常者共有 145 人(4%)，其中符合收案條件者共有 82 個 case (57%)，其中 43 位因為 drug resistance，其中 22 位拒絕參加，於重新給藥前，撤除同意書，故共有 17 位納入分析。不論標準加藥組或緩慢加藥組，於肝炎恢復後，其重新用上 INH+RMP 的成功率都只有約 60-70%。17 名患者中，有 3 位因為 RMP re-challenge 而引起黃疸而停止重新給藥(17.6%)，1 位因為 INH re-challenge，肝炎復發而停止重新給藥(5.9%)，1 位因為 RMP 引起 Skin rash 而停藥(5.9%)，1 位因為突發性心律不整而停藥(5.9%)。此四位肝功能異常病患中，僅 1 位病患為 chronic HCV infection。在 5 位(29.4%)為 Chronic HCV infection 患者中，有 3 位隨機分配標準加藥組，有 2 位分配於緩慢加藥組，僅有一位緩慢加藥組中患者(20%)於 RMP rechalleng 時發生 Jaundice 而 rechallenge 失敗，其餘 4 位患者皆成功 rechallenge INH+RMP (80%)。顯然 Chronic HCV infection 並不會降低 INH-RIF rechallenge 的成功率。這種現象，不同於過去的研究(高達 90%以上的患者仍然可以順利使用上標準抗結核處方，人種之差異可能是最主要的因素。

少數病患接受 PZA 的 rechallenge，標準加藥組 9 個 case 中，因 3 位患者於 re-challenge INH 及 RMP 時停止 re-challenge，先前發生肝炎的發炎指數 GOT/GPT > 8 X 以上的有 3 個 case，所以只有 3 個 cases 有再 re-challenge PZA。結果，僅 1 位(33.3%)患者上藥成功，2 位患者 (66.7%)因 PZA 引發肝炎而上藥失敗。緩慢加藥組 8 個 case 中，因 3 位患者於 re-challenge INH 及 RMP 時停止 re-challenge，先前發生肝炎的發炎指數 GOT/GPT > 8 X 以上的有 1 個 case，黃疸有 1 位而無法再給 PZA，所以只有 3 個 cases 有再 re-challenge PZA。上藥成功指亦僅有 1 位(33.3%)，其中 1 位因 PZA 引發肝炎而停藥、另一位因 PZA 引發黃疸而停藥。6 位接受 PZA rechallenge 的病患，有 50%病人證實為 PZA induced hepatitis，16.7%為 PZA induced jaundice。共有兩位病患(11.8%)，成功 rechallenge INH+RMP+PZA，其造成 hepatitis 的原因不明；另外 5 個病患，雖 rechallenge INH+RMP 成功，但並無 rechallenge PZA，並無法完全排除 PZA 引起 hepatitis 之可能性。5 位(29.4%)患者為 Chronic HCV infection 患者，有一位患者(50%)於 RMP rechalleng 時發生 Jaundice 而 rechallenge 失敗，其餘 4 位患者成功 rechallenge INH+RMP。這 4 位患者中，有 2 位因為嚴重肝炎剛恢復(一位為黃疸，一位為 GOT/GPT>8*UNL)而沒有接受 PZA rechallenge。其餘 2 位患者，都接受標準加藥組的 PZA rechallenge，然而，全部 2 位患者(100%)，皆因 PZA 再次引發肝炎而中止重新給藥。因此，

可以推論，5 位 HCV 患者中，有一位(20%)為 RMP induced jaundice，有兩位(40%)證實為 PZA induced hepatitis，但有兩位成功 rechallenge INH+RMP 但無 rechallenge PZA，並無法完全排除 PZA 引起 hepatitis 之可能性。整體而言，因為 PZA rechallenge 的成功率很低，不論是否有慢性肝炎，PZA 可能是造成 hepatitis 最主要的藥物。

4. 由目前收案情況及實驗過程中顯示在有肝硬化之結核病病患要進行臨床試驗相當困難，由於許多慢性肝炎患者，在腹部超音波及肝功能檢查方面，與肝硬化病人存在相當程度重疊性，甚至包括檢查者主觀意識之判斷。尤其在未用抗結核藥物之前，經常無法早期下肝硬化之診斷。另因肝硬化之病患晚期常病情嚴重，併肝腎症候群等，致無法接受抗結核藥物治療，致即使收案卻仍無法順利完治。且部分早期肝硬化病人，可能肝功能指數(AST/ALT)及膽紅素皆正常，當接受抗結核藥物治療後，肝功能惡化才表現出來。故除非早期作腹部超音波，否則不易診斷。本院於 100 年 1 月 1 日至 12 月 10 日為止，總共通報 TB 患者為 281 位，在主動篩選過程中，發現肝功能不佳者為 130 位，為了提高收案率，因此增加安排腹部超音波檢查。在此嚴密篩選下，已不易在原收案條件下增加收案數。而部分早期肝硬化病人，可能肝功能指數(AST/ALT)及膽紅素皆正常，當接受抗結核藥物治療後，肝功能惡化才表現出來，故建議早期安排腹部超音波檢查。此外，治療後肝功能異常者，需常規以腹部超音波篩檢慢性肝病。即便是符合收案條件，但常因病情嚴重而無法用藥，導致即使收案卻仍無法順利完治。由於肝硬化病患(Child A to C)有極高肝毒性風險，是否有必要經由一線藥物標準處方治療，徒增風險，有待進一步研究。且此族群案例不多，或許在擬定診治指引時，將選用部分二線藥之處方列入考慮。此外，因肝硬化合併結核病的臨床案例數未如預期，且根據本研究在篩選案例中，肝功能異常 GOT/GPT 五倍以上異常的患者共有 16 位；三倍以上異常患者有 5 位；黃疸指數異常但肝功能正常者有 19 位；其中在尚未服用抗結核藥物即肝功能異常者為 23 位。不符合肝硬化診斷病人中，因用藥後肝功能異常，經停藥-再試藥過程，仍無法使用一線藥，到最後仍須使用二線藥人數 9 例，超過 10%。爾後收案條件或可調整為未用藥前肝功能即已達到 AST/ALT 正常 5 倍以上、或黃疸指數明顯異常者，較能達到收案目標。

4-2 重度肺結核與複雜性多重抗藥性肺結核之治療策略及影響臨床治療成效因素（詳見附錄 p461）

重度肺結核

本研究發現罹病的嚴重度在個人基本資料方面與性別、教育程度、是否吸菸、是否喝酒、本身罹患高血壓、糖尿病者呈高度相關。在治療藥物方面亦發現愈嚴重者使用 Isoniazide、Ethambutol、Rifampicin、Pyrazinamide 的天數愈長，如以變異係數來看這四種一線治療藥物的治療天數我們發現 Isoniazide、Ethambutol 及 Rifampicin 的變異係數介於 0.5~0.6 間，但 Pyrazinamide 則高達 1.03，顯然臨床醫師以 Pyrazinamide 治療結核的使用天數上存在明顯差異，所以我們對 Pyrazinamide 使用天數對治療結果的影響作進一步探討。

在臨床症狀方面，發現罹病愈嚴重者其咳嗽、喘、發燒及體重減輕等症狀亦會較為明顯，且其 WBC、HB、Platelet、Albumin、HbA1C 數值亦會隨著罹病愈嚴重而變化，此現象與其是否吸菸、是否罹患糖尿病、高血壓之情形吻合。

此外本研究亦針對痰液陰轉速度進行 Cox 回歸分析，將所有影響罹病嚴重度之相關變項(已排除相似之變項)一起放入回歸方程式後發現教育程度、是否吸菸及 x 光片嚴重程度依然是影響其陰轉速度的主要原因，且以 x 光片之嚴重程度為最。因此，本研究進一步將 far-advance 及 PZA 之間的關係進行深入探討。

在痰液陰轉的情形方面，抗酸抹片價數與培養的價數愈多其罹病愈嚴重，而 non-faradvance 抗酸抹片 80% 在 48 天(約 1.5 個月)陰轉、培養 80% 在 60 天(約 2 個月)內陰轉；faradvance 抗酸抹片 80% 在 126 天內(約 4 個月)陰轉、培養 80% 在 82 天(約 2.7 個月)內即已陰轉，其中抗酸抹片 faradvance 陰轉的速度較其培養的速度緩慢，與臨床醫師之經驗吻合。但由於研究中發現 PZA 在使用的天數有很大的差異，因而進一步以 PZA 使用大於 75 天及小於 75 天進行分組，從 PZA 使用天數的不同檢視各變項間是否有所差異，研究結果顯示，不論以痰液抹片陰轉天數、痰液培養陰轉天數、完治與否及是否於兩年內復發，兩組間皆無明顯差異，且各變項間除胸腔病院使用 PZA 天數較其他醫院長之外，其餘各變項並無顯著差異，由此可發現在標準治療處方下。PZA 似乎不需延長其使用時間。

複雜性多重抗藥性結核病

一直以來複雜性多重抗藥性結核病患者由於缺乏有效的抗結核藥物、或無法忍受二線藥物的副作用，使得許多患者在臨床上的治療效果都不甚理想。近年來國外已有許多研究顯示 Linezolid 對於複雜性多重抗藥性結核病患者有顯著治療效果，但同時國外研究結果也指出由於其副作用及骨髓抑制、末梢神經炎等藥物毒性問題造成臨床使用上的限制。2008 香港的文獻報告顯示 Linezolid 對於 MDR-TB 有臨床上的治療成效，在對 fluoroquinolones 抗藥的患者上，可迅速的減低結核菌量，但是缺點是在服

用一天 2 次的劑量時，會有嚴重的副作用，患者常無法忍受超過 2-3 個月的療程，如果將劑量減成 1 天一半骨髓毒性似乎可以減輕。2009 年韓國的研究發表也證實了，一天 600 mg linezolid（分成一次或兩次服用）可減少骨髓毒性。2010 年加州的一項研究也以假設一天 600 mg linezolid 有較少的毒性但一樣是有效果的概念為基礎來執行，並得出良好的結果。

在本研究計畫裡，我們的治療過程以包括第 5 類抗結核病藥品 Linezolid 和搭配 clofazimine，如患者可住院加打 imipenem 4 個月為基本藥方，以有使用 Linezolid 作為收案標準，再根據病患藥物副作用與抗藥情況做藥物調整，達到至少有用的口服藥物 4 種，以積極治療方式至痰陰轉 18 個月。使用 Linezolid 時需要加 vitamin B6，以防止 hematologic toxicity。

由於個案分散在各合作醫院，我們全權尊重各收案醫院醫療團隊的治療用藥評估、副作用發生的處置、停用藥與否的決定。此計畫並全程採用直接監督治療（DOT），開始治療時明確告知病人可能會出現的副作用，萬一有不舒服時儘快通知關懷員或醫護人員。Schechter et al. 的研究報告提出，由於對複雜性多重抗藥性結核病有效的藥物很少，與其因為副作用而停藥，在治療時了解及探討如何去妥善處理克服因 Linezolid 引起的副作用顯得更為重要。再者比起常見的因二線藥物所引發的嚴重腸胃不適，進而造成患者無法忍受而放棄治療的問題，Linezolid 甚少出現腸胃方面的副作用。我們的九名個案雖然使用的 Linezolid 劑量皆不超過一天 600mg，但還是有六位治療過程中有出現副作用，這比例算不低，比德國的流行病學研究報告[19]的 33% 還高，但我們的個案症狀在暫時停用 Linezolid 或降低劑量(600mg→450mg 或 300mg)後都有獲得改善；嚴重貧血時則以輸血方式處置，病人也都願意繼續接受治療；相對的，個案在治療過程中因二線藥物引發的噁心、嘔吐、腸胃不適，針劑引發成的暈眩，Cycloserine 導致的情緒不穩、憂鬱等問題反而更是讓病人對繼續治療感到卻步不安甚至會抗拒繼續治療。

治療效果方面個案中有兩位是在用 Linezolid 兩個月內陰轉，一位則在用了三個月後陰轉，有兩位個案可能是在即將陰轉時開始使用所以剛用時即陰轉；另外有兩位是陰轉後開始使用 Linezolid，一位則剛開始使用不到一個月所以還是痰陽，尚待觀察。結核病的治療需要 18~24 個月，目前個案數仍未達研究預期的收案人數，加上僅有一位已完治，一位因其他因素死亡，一位已中途停藥，一位剛開始治療仍是痰陽的情況，很難有精確的治療效果統計。儘管如此，就本研究四位由陽轉陰的個案，陰轉時間平均約為 1.7 個月，這已應證前面提到的 2008 香港文獻[20]中顯示的 Linezolid 可短期降低結核菌數，也同時應證即使是使用一天一次 600mg Linezolid 還是一樣有良好效果，並能減輕藥物毒性使在可控制範圍內，更重要的是使患者願意配合繼續療程。

4-3「不良結核病醫療處方及早介入改善措施模式」之建立與評估（詳見附錄 p509）

為瞭解本計畫研究對象之用藥歷程，與黃丞正醫師進行訪談，確認結核病診治指引第四版之第一線抗結核藥物與標準處方之資訊及不良處方之定義。其次，分別與沈光漢醫師和黃伊文主任討論研究對象之分類，為新病人與再復發病人，因此標準處方方面，packages 有兩種。並且進行規則確認，大分類下，分為第一線抗結核藥物與第二線抗結核藥物。開藥方面，以一般門診一般開藥習慣為 28 或 7 天為參考標準，因此以上述為單位較適當（以 28 天或 7 天為單位），方式建議以範圍呈現較佳。此外，中央傳染病追蹤系統之資料庫，未能分類出該研究對象是否為新病人、再復發病人（再治病人），因此可將導致不易釐清其不良用藥組合的原因。資料庫之就醫日期分布太廣，其用藥歷程可能產生切頭切尾的情形，導致用藥組合不完整、進而被歸類為不良之藥物處方。同時因 Error packages 可能包含了二線藥，因計畫時程的關係，尚未將二線藥另行挑出，故其不良率應會下降。

4-4 東台灣結核病防治計畫（詳見附錄 p588）

加強山地鄉結核病防治

接觸者檢查的發現率非常高，表示品質良好，但是數量不夠，每位確診病例只找到 8.13 人，未達預期指標(10 人)。檢討原因有下列數點，1.努力不夠，針對目前無症狀的接觸者要求去檢查，動機不夠，常懶得去檢查。2.檢查須付費也是阻力。3.有些病人不想告知接觸者怕會造成歧視。4.接觸者的定義模糊也造成困擾，整體而言，必須多方努力來改善。實驗室通報的成效也良好，可以多多推廣，鼓勵其他實驗室也加入通報行列，以利個案發現。社區篩檢的成績也良好，值得更加努力。山地鄉個管師的新構想也不錯，但是如何和衛生所同仁合作須要進一步協調。結核病的治療費時久遠，須 6 到 9 個月，本研究從今年 2 月才開始，因此無法評估此項。於執行本計畫的過程中，有多數病人會主動告知山地鄉個管師身體不舒服的情況，因此個管師常能在第一時間掌握病患的情況，病人遵從性提高，有望提升整體的治療成功率。個案接受治療期間，個管師可將其所遭遇的困難以及在個案管理上所能提供的協助做個整理，如何能最有效的幫助個案是很重要的事。服藥順服性影響治療成功率甚鉅，個案的管理可能會影響病人的遵從性，完善山地鄉個案管理師之管理模式有其必要。定期舉行個案管理會議，可維持個案管理的品質，也可搜集及整理個案之接觸者資料，對執行接觸者的檢查有益。

多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

中台灣曾經針對多重抗藥性結核病患者的接觸者進行潛伏性感染的研究結果只有 19% QFT 陽性和 46% TST 陽性。但是本研究在東台灣的結果差異很大，55.1% QFT 陽性和 52.4% TST 陽性，表示東台灣地區的潛伏性感染非常嚴重。本研究也顯示，原住民接觸者的潛伏性感染遠高於非原住民接觸者，(QFT60.5% VS.30.6%)，(TST54.1%VS.44.4%)，這或許是因為山地鄉的結核病發生率遠高於非山地鄉。本研究將持續追蹤 QFT 陽性或 TST 陽性的接觸者，以早期發現疾病早期可以治療。

再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

藉此研究，藉由本研究想瞭解東台灣地區(花東)與台灣其他不同地區(如台北)，是否在再治結核病人之菌株抗藥性之分布比例有所差異。並已於 2009 年完成東台灣多重抗藥性肺結核菌株基因型與病患群聚之研究，我們認為分析再治肺結核病患的相關研究將有助進一步釐清結核菌株抗藥性之產生機轉，這乃是防止多重抗藥性肺結核發生之重要工作。在社會上，一旦多重抗藥性肺結核散佈時，則整個社會將付出相當大的成本，因此，我們認為持續監測任何可能導致 MDR-TB 發生之可能原因如：單一抗藥菌之產生與再治肺結核病患發生結核抗藥性，對多重抗藥性肺結核之防治是需要的工作。經過本研究將可收集再治結核病人之臨床表現、治療反應，並對分析、追蹤與監控個案復發與再感染情況做出進一步的釐清。東台灣一向在台灣屬於肺結核(包括多重抗藥性肺結核)之高發病地區，防治肺結核工作相對需要重視，運用疾管局東區結核合約實驗室，可收集東台灣之再治肺結核病患的菌株以進行相關分析。再治肺結核病患，於我們的社會中，是散播耐藥性肺結核之重要來源。針對再治肺結核研究之成果，更足以展現一個國家之結核政策是否成功。

肆、結論與建議

■ 計畫主題一：建置結核病完整資料庫及分析應用

1-1 建立完整的結核病資料庫:包含病患臨床表現、治療反應、宿主因子、及結核菌株

建置一個完整的資料庫，對於傳染病的疫情管理及疾病本身的研究分析，都是最有效的基本步驟，目前研究團隊也有幾篇重要的論文發表。感謝生策會及疾管局積極投入經費支持此項臨床研究計畫。

除此之外，我們會陸續針對結核病診治上重要的議題，利用所建構的資料庫資源，逐步開始進一步的分析研究。希望未來能夠讓台灣在結核病的研究上，有更出色的表現。

■ 計畫主題二、研發結核病診斷工具與低副作用藥物

2-1 應用核酸質譜儀與免疫磁減量技術發展快速偵測結核菌及其抗藥性之新技術

核酸質譜儀技術

本計畫利用基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜儀(MALDI-TOF MS, matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry)，建立新穎性高敏感度的結核菌偵測平台，以改進傳統結核菌檢測低敏感度、低特异性與耗時之缺失，除此之外，對於日益嚴重之結核菌抗藥性，本系統亦可以提供早期診斷與預防的防疫機制，而且對於持續投藥之病患亦可以監控其抗藥性產生，提供快速鑑定，及早投藥之個人化醫療策略。

免疫磁檢量技術

第一部分：結核病偵測標的選定

CFP10 與 ESAT6 的重組蛋白可以由 *E. coli* BL21 進行表現並加以純化，但如果要單獨表現 *esat6*，需要更換表現系統。將 CFP10 與 ESAT6 分別表現與製備抗體，可以減少兩者間的干擾，並且透過兩種抗體進行重覆確認，可以增加檢測的準確度。

第二部分：重組蛋白多株抗體檢測套組與重組蛋白誘導之 IFN- γ 套組建構

本計畫所建立之 ELISA 平台與磁減量平台相互比較，結果 ELISA 平台無法區分 positive 與 negative 樣品，而磁減量平台可以，可見磁減量平台能偵測到濃度更為低的 IFN- γ ；若使用與 QFT 平台相同的檢體量，磁減量平台偵測的樣本濃度可以再提高 50 倍，如此便能獲得兩個優勢：

1. 增加檢出率：樣本濃度提高，訊號跟著提高，如此一來便可以大幅增加磁減量平台對於陽性樣品與陰性樣品的區分能力。
2. 縮短時間：
 - 2.1 QFT 平台中必須以 CFP10 與 ESAT6 刺激 16 小時之後才偵測其血清中的 IFN-r；但由於磁減量平台的靈敏度較高，所以在 CFP10 與 ESAT6 刺激的過程中只要產生足夠的 IFN-r 造成足夠的“磁減量- $\phi_{\text{INF-}\gamma}$ ”，便可以被檢測出來，有機會減少刺激所需要的時間。
 - 2.2 以檢測實務來看，經過刺激之血清，目前是以 ELISA 方式進行偵測；ELISA 方式必須由技術人員操作，經過反應、沖洗、呈色等步驟，再加以判讀。而磁減量平台僅需加入樣本，就能從儀器得到讀值，大幅減少操作所需費之人力、時間與失誤。
3. 增加 IFN-r 濃度：可以考慮減少 medium 的量，等於直接提高細胞產生的 IFN-r 濃度，或許還能提早偵測到 IFN-r 濃度上升。
4. 目前磁減量平台現在的偵測時間為求獲得完整的磁量變化曲線，必須要偵測到 300 分鐘以上，希望未來透過發展 multiple detection system，配合即時偵測持續監控，只要一到達閾值便可以確認，可大幅減少偵測時間。
5. 因為目前所使用之抗體（一般商業化的抗體）並未最佳化，只是針對磁減量檢測平台測試可行性。未來如要進行商品化，必須尋找更合適的抗體，透過抗體的最佳化（提高抗體專一性/特異性），將有機會提高偵測極限或縮短偵測時間。
6. 針對 IFN-r 的檢測屬於間接法，原希望能發展出以檢測 ESAT6/CFP10 抗體的直接法來進行，如此一來可以免去 IFN-r 已經因其他感染而提高或者是個體免疫力差別的情況。但由於計畫開始時間已稍延後，研究人員已盡力加快研究速度，但抗體之生產需要一定之時間，無法加速，造成 ESAT6/CFP10 磁減量平台偵測必須略為延後，最後卻又必須提早繳交報告，受限於時間關係，還未能獲得到這一部分的結果。
7. 本計畫主要目標在 IMR 方法學的建立，所使用之抗體（一般商業化的抗體）並未最佳化，只是針對磁減量檢測平台測試可行性。由於計畫開始時間延後，且又提前結案，有部份計畫內容仍在進行中，目前尚無法提供 IMR 與 QFT 完整的比較結果。將來若要落實商品化，仍需藉由生策會的整合，進行大規模的臨床測試，並與其他子計畫發展的方法進行比較。

2-2 開發抗結核複方製劑及應用代謝酵素抑制劑研製低肝毒性之 Isoniazid、Rifampin、Pyrazinamide 抗結核藥物

新穎抗結核病複方製劑之研究與開發

本年度研究目標為進行正式人體臨床試驗，為達此目的，本實驗室已購買於歐盟核准上市之對照藥(Rimstar)；申請三軍總醫院人體試驗委員會之人體試驗核准同意函，並與國內符合PIC/S藥廠合作研發複方四合一抗結核病藥物雙層錠的處方。今年度已修正處方，並檢驗其相關藥化性質(包括含量分析、均一度試驗、崩散試驗、安定性分析及溶離試驗等)及完成共動物(狗)預試驗。由動物試驗結果篩選潛力配方(RIP111013T)，進行biobatch製造並生產可提供人體試驗之臨床用藥，此臨床用藥亦符合製藥相關規範。本年度人體試驗預計至少完成36人次，本實驗室預計11月完成生體相等性臨床人體試驗，目前正準備進行檢品分析。本實驗室已建立之LC/MS/MS之分析方法，可於人類及狗血漿中一次分析四種藥品成分，且於使用的含量範圍內線性關係良好，可加速結果的研判。為確保分析方法的穩定性，為確保分析方法的穩定性，於人體試驗檢品分析前亦本試驗於人體試驗檢品分析前已完成完整的確效分析，包括精密度、準確性、線性、最小偵測濃度、最小定量濃度等。精密度試驗。最小偵測濃度依據預期樣品濃度而設定pyrazinamid：0.2 µg/ml；rifampicin：0.1 µg/ml；isoniazid、ethambutol：0.05 µg/ml，如表四所示。安定性試驗部分亦進行5項安定性之，包括：間/同日內安定性分析、短期室溫安定性、分析期間安定性、冷凍解凍安定性之分析。

本實驗室過去四年，已開發出多種配方製劑，經動物及人體臨床試驗結果分析後，目前認為批號RIP1110113T試製成品為潛力成品。經審慎評估後預計於今年(100年)11月完成RIP111013T及Rimstar共36人次兩期、交叉性人體臨床試驗。依據此人體臨床試驗結果，預期未來可開發出目前國內市場仍缺的四合一抗結核病第一線藥物。甚至進一步嘗試修改處方，朝減少服用錠劑顆數，即可達體內治療濃度，提升病人服藥順服性及舒適性的方向研發；另外也將利用已建立開發的製藥平台，與減少副作用藥物或治療其他疾病（如：愛滋病等）的藥物結合的方向研發。目前本研究已順利達成的目標如下：1. 已開發多種四合一抗結核病藥物製劑，並選擇較具潛力配(RIP1013T)方與國內符合PIC/S藥廠合作，完成biobatch製造並生產可提供人體試驗之臨床用藥，此臨床用藥亦符合製藥相關規範。2. 各處方製劑均完成相關藥化性質測試(包括含量分析、均一度試驗、崩散試驗、安定性分析及溶離度試驗等)。3. 選擇最具潛力配方(RIP1013T(Qstar))於今年11月份完成40人次人體臨床試驗。4. 預計12月分完成分析及統計。5. 本案已於100年8月29日至TFDA進行新藥查驗登記。

開發無肝副作用抗結核藥物 Isoniazid 製劑

不同處方之低副作用Isoniazid劑型於健康受試者體內藥動學研究中，isoniazid及rifampin併用HUCHE033 360 mg組於健康受試者血液中可觀察到INH與其經Amidase代謝之代謝物Isonicotinic acid其Cmax顯著低於控制

組，顯示抑制Amidase可能是HUCHE033於體內有效降低INH/RIF肝毒性的可能作用機轉之一。而併用HUCHE010 110 mg組雖然在INH及其代謝物的各項藥動學參數上，皆無顯著與控制組不同，但是若是同時併用HUCHE033 360 mg和HUCHE010 110 mg，將可顯示出比單獨併用HUCHE033 360 mg組更強的Amidase抑制效果，此一現象可由AUCinfinity的降低幅度得到佐證，這顯示HUCHE033與HUCHE010同時併用對Amidase的抑制作用有協同的效果，由文獻上得知HUCHE010可增加HUCHE033的口服吸收，這可能是造成此一協同作用的機轉。另外由於單獨或同時併用HUCHE033 360 mg及HUCHE010 110 mg對於isoniazid血中濃度及各項藥動學參數影響皆不顯著，但會造成rifampin的吸收小幅降低，機轉尚待進一步研究釐清。而由不同處方之低副作用Isoniazid劑型於健康受試者體內對CYP2E1活性及相關指標影響研究中發現，在isoniazid/rifampin存在下，同時併用Chlorzoxazone和HUCHE033 360 mg或HUCHE010 110 mg，血液中Chlorzoxazone和經CYP2E1代謝之代謝物6-OH Chlorzoxazone之濃度及要動學參數皆無顯著改變。此一結果與前期成果有所差異，前期計畫中，在isoniazid單獨存在下，同時併用Chlorzoxazone和HUCHE033 180 mg，於健康受試者體內有顯著抑制CYP2E1的現象。造成此一差異的原因可能為併用rifampin在體內會誘導CYP2E1的活性，造成受試者體內的CYP2E1的活性比單獨服用isoniazid時高，故需要更高劑量的CYP2E1抑制劑才能達到抑制的效果。

應用代謝酵素抑制劑解決抗結核藥物 Pyrazinamide 肝副作用之研究

針對臨床病人服用抗結核藥複方，收集服藥後之尿液檢品分析，至今計有107位尿液檢品經HPLC分析PZA及其代謝物含量。經藥歷資料確認是否服用PZA後，未服用PZA與檢品藥物濃度低於偵測極限共排除22位，而服用PZA且具肝毒性有24位，無肝毒性有61位，結果經以原型藥物PZA為分母進行規格化後，顯示5倍肝毒性患者尿液中5-OH-PA比例明顯高於2倍肝毒性與無肝毒性患者(5-OH-PA/PZA: 523.6 ± 79.6 to 128.9 ± 20.1 or 49.0 ± 6.3 , $p < 0.005$)，2倍肝毒性患者尿液中5-OH-PA比例亦明顯高於無肝毒性患者(5-OH-PA/PZA: 128.9 ± 20.1 to 49.0 ± 6.3 , $p < 0.005$)，代表服用PZA有肝毒性患者尿液中5-OH-PA/PZA比例，會隨著肝毒性嚴重性而增加，即有肝毒性患者PZA可能被代謝較多，導致尿液中含量減少。另外5倍肝毒性患者尿液中PA比例明顯高於無肝毒性患者(PA/PZA: 46.3 ± 15.0 to 10.7 ± 1.5 , $p < 0.005$)，2倍肝毒性患者尿液中PA比例亦明顯高於無肝毒性患者(PA/PZA: 32.7 ± 7.3 to 10.7 ± 1.5 , $p < 0.005$)，表示服用PZA有肝毒性患者尿液中PA/PZA比例，會隨著肝毒性嚴重性而增加。PZA肝毒性與其代謝物如PA及5-OH-PA的多寡有關。

此外，對於XO不同基因型與PZA藥物肝毒性風險試驗，已分析完成167位TB患者基因試樣，已分析完成XO 5種SNP之結果，發現有3種單一核苷

酸發生變異(SNP)，各是rs1884725、rs2295475、rs17011368，其中SNP rs1884725、rs2295475與PZA藥物引起肝毒性風險比(Odds ratio)各是5.372 ($p = 0.002$)、12.964 ($p = 0.000$)，結果如表四所示。顯示當具有xanthine oxidase rs1884725 GA或AA genotype (G表wildtype allele、A表mutant allele)，使用抗結核藥PZA產生肝毒性機率比具有xanthine oxidase GG genotype來得高(Odds ratio: 5.372, $p = 0.002$)；在rs2295475 GA或AA genotype亦有相同趨勢(G表wildtype allele、A表mutant allele)，比xanthine oxidase GG genotype具有較高肝毒性發生率(Odds ratio: 12.964, $p = 0.000$)，顯示具rs1884725與rs2295475 突變型對偶基因患者較野生型具較高PZA肝毒性風險，此結果可給予醫師未來在給TB患者PZA用藥處方上之建議與參考；而rs17011368不同基因型與PZA肝毒性風險無關，但就目前收案分析結果來看，不同於rs1884725、rs2295475 genotype結果，rs17011368是TT genotype (T表wildtype allele、C表mutant allele)可能較TC或CC genotype具較高肝毒性發生率，rs17011368 wildtype genotype之TB患者可能具較高肝毒性風險。此外，亦完成167位TB患者xanthine oxidase 5個SNP allele frequency分析，其中 rs1884725與2295475的 allele frequency，wild-type /mutant allele 的分佈各是72.5/27.5與51.5/48.5百分比，而在genotype分佈上各是 wildtype 72.5%與51.5%，heterozygous mutant 25.1%與38.8%及 homozygous mutant 2.4%與9.7%；而rs17011368，wild-type /mutant allele 的分佈各90.4/9.6百分比，在 genotype分佈上各是 wildtype 90.4%與heterozygous mutant 9.6%，在這次樣本中未發現homozygote genotype；另外，在rs566352與rs72549369 allele frequency分析，在這次樣本中僅發現wildtype genotype而無找到任何mutant genotype。

針對PZA併服不併服HUCHE033，PZA藥物與其相關代謝物於健康受試者體內藥動學試驗，結果顯示併服HUCHE033對PZA於健康受試者體內的藥物動力學影響並不顯著，並能有效降低PZA毒性代謝物5-OH-PA (AUC: 7.41 ± 0.73 to 5.42 ± 0.72 , $p < 0.01$)，amidase抑制率約25%。經PZA規格化，將PZA代謝物5-OH-PA、PA、5-OH-PZA各別除以PZA原藥物曲線下面積(AUC, area under the curve)比值，為metabolic ratio，如表八所示，結果顯示HUCHE033能有效降低PZA毒性代謝物5-OH-PA (ratio of plasma AUC with 5-OH-PA / PZA: 5.92 ± 1.13 to 3.60 ± 0.43 , $p < 0.01$)與PA (ratio of plasma AUC with PA / PZA: 28.23 ± 3.60 to 21.35 ± 3.20 , $p < 0.01$)比率，amidase抑制率約39%，顯示HUCHE033於人體內可能仍具抑制amidase效果，且可降低5-OH-PA/PZA或PA/PZA等毒性代謝物比例，推論HUCHE033在人體內可能具降低PZA藥物肝毒性潛力，未來可進一步利用該資料開發低副作用PZA新劑型，改善PZA肝毒性副作用，提高TB患者服用PZA藥物的順從性。

以代謝酵素基因型預防 Isoniazid 及 Rifampin 所產生之副作用

我們以過去累積超過400例之結核病患者基因型檢驗結果與臨床資料分析，找到了7個 NAT2 SNPs在TB drug-induced hepatotoxicity有顯著的相關性，結果發現若帶有此7個 NAT2 SNPs其中任一個SNP之TB病人，其服用抗結核藥物誘發肝毒性的風險顯著高於未帶這7個SNPs之TB病人達到1.8到10.3倍。並顯示在整體的結核病患者族群中有12~29%的TB患者，是屬於服用抗結核藥物誘發肝毒性的高風險群。且在高風險族群患者中，有32~37%的比例會發生肝毒性副作用，顯著高於低風險族群的發生率(12~16%, $p < 0.001$)。此一成果不但是首次建立國人族群之基因型分布情形，亦為全球結核病相關研究之最新進展。未來在臨床醫師對結核病患者的治療過程中，只要對患者進行少數NAT2基因型的檢測分析，即可有效預測患者在接受含Isoniazid等抗結核藥物的治療過程中，是否為容易誘發藥物肝毒性副作用的族群，將有助於臨床醫師留意患者服用藥物的情形，減少因副作用導致的順從性不佳、服藥中斷等問題，提高結核病的控制率。且以rs1961456* rs1799931之組合在高低風險組間具有最高的發生率差異與風險比(12% vs. 36%, odd ratio = 4.131)，僅需分析2個位點之基因變異，對於未來臨床應用或開發快速檢驗測試晶片或試劑具有較佳的競爭優勢。顯示以此兩種SNP組合方式作為預測結核病患者服用抗結核藥物後發生肝毒性之風險，具有最佳的代表性，同時亦具有較佳之成本效益(cost-effectiveness)。然而，對於整體約18%的肝副作用發生率而言，該基因型組合僅能預測約26%的患者為高風險族群，高風險族群之肝副作用發生率為36%，而仍有近半數發生肝副作用的患者未能預測為高風險族群，顯示此基因組合尚有改進的空間，未來若能持續對影響藥物誘發肝毒性的相關因子進行分析，經有助於準確預測高毒性副作用的發生率，提高治療的效益並達成有效的結核病防治目標。

2-3 利用奈米科技研發新劑型抗結核藥物

綜合而言，SiO₂和中孔洞 SiO₂ 奈米粒子是有效而安全的藥物載體，比 free INH 更容易被吞噬進入巨噬細胞體內，因而增加 INH 藥物的細胞吸收度，大幅提高[胞內/胞外]的 INH 吸收比值。本計畫未來的研究方向將比較探討 SiO₂ 奈米化 INH 藥物對於感染巨噬細胞之結核菌的毒殺能力，並進行老鼠動物實驗，將 free INH 和奈米藥物藉由支氣管滴注方式(bronchial instillation)送入肺部，調查奈米化 INH 藥物是否能增加肺泡巨噬細胞的藥物吸收度和提高[胞內/胞外]的 INH 吸收比值。未來若將 INH 奈米化藥物以口鼻吸入方式給藥，直接增加藥物傳遞至肺泡巨噬細胞的效率，將能夠減少投藥劑量與頻率，從而減少副作用發生率，增進治療的效果。

2-4 建立增強 SPI10 基因所調控的免疫力之藥物篩選平台

一個好的藥物篩選策略與方向將可減短所需的時間及減少所需的經費。結核病已是當今世上極為嚴重的公衛問題，雖經眾人的努力，卻仍有將近半個世紀的時間沒有新的抗結核病藥物上市。此顯示傳統的藥物篩選方向已經面臨了極大的困難和瓶頸。有別於傳統上以病原菌本身作為藥物作用標的的篩選及開發新藥策略，此計畫所建立的藥物篩選平台，是以細胞為標的篩選增強宿主細胞免疫力的分子標的之化合物。此平台的建立雖離臨床使用仍有一段距離，但將對未來結核病、甚至其他感染症的治療與相關的藥物研發提供一個新的策略與方向。

此以細胞模式的生物活性分析 (cell-based bioactivity assay) 之篩選平台主要是篩選以調控宿主對結核分枝桿菌的免疫力或阻礙結核分枝桿菌對宿主防禦機制的干擾與破壞，來抑制結核分枝桿菌的生長與消滅它們的存在。而這樣的一類藥物，由於並非直接作用在結核分枝桿菌上，亦可能因而降低結核分枝桿菌產生抗藥性的機率。然而，每一種實驗方法都有其侷限性，此篩選平台亦然。例如，結核分枝桿菌除了能在巨噬細胞內生長外，亦能在樹突細胞 (dendritic cells) 及脂肪細胞 (adipocytes) 內生長，但此兩種細胞均無法在活體外進行培養，所以便無法運用在此平台上進行藥物的篩選。而此平台的篩選標準 (screening criteria)，是以干擾素 gamma (interferon- γ) 所增強的綠色螢光訊號 (green fluorescence signal) 為基準，來篩選能誘導出比此訊號強的化合物。

➤ 計畫主題三、了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子

3-1 比較兩種預防性治療處方對於結核病家庭接觸者、密切接觸者的預防成效

1. 本研究家庭以及密切接觸者陽性率約為三分之一，應該努力篩檢並進一步給予預防性治療，以降低日後的發病率。
2. TST 與 QFT-GIT 有很高的相關性，但 TST 的偽陽性較高，導致單用 TST 進行篩檢成本效益較低。建議應藉由 QFT-GIT 的高特異性進一步確定潛伏結核感染，以提高公共衛生的資源利用效益。
3. 目前國內針對密切接觸者檢查採用胸部 X 光及皮膚結核菌素試驗，在尚未發展出潛伏結核感染之黃金診斷標準以前，建議可暫時將丙型干擾素釋放法列為密切接觸者結核感染篩檢項目之一。
4. 具有意義之 Quanti-FERON[®]-TB Gold In-Tube 陽性危險因子為接觸過的結核病人數。
5. 建議衛生單位建立全國密切接觸者管理系統，每半年至一年需督促結核病接觸者做胸部 X 光檢查，以利日後定期追蹤。

3-2 結核病高危險族群，包括醫護人員、愛滋病毒感染病患、慢性呼吸衰竭病患、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物（anti-tumor necrosis factor blockade）治療之自體免疫疾病患者、血液及腹膜透析病人、長期照護機構、第二型糖尿病患者、以及肺癌病人之潛伏結核感染追蹤調查

1. 潛伏性結核菌感染在 210 位平均年齡為 36 歲的 HIV 病毒感染病患的比例約 6.8%。14 位 ELISPOT 陽性且非結核菌感染病患因目前健康狀況良好，對接受潛伏性結核菌感染預防藥物投予的意願不高 (0%)。國內結核病發生率仍偏高，表示病患仍有可能自外界感染結核病，是否 ELISPOT 陰性且非結核菌感染病患在接下來的追蹤中有很高比例陽轉，是否 ELISPOT 陽性且非結核菌感染病患在接下來的追蹤中有較大的機會發展成結核病，值得加以追蹤，以對國內未來潛伏性結核菌感染預防藥物政策提出具體建議。
2. 慢性呼吸衰竭患者慢性呼吸衰竭病患為結核病之高危險群，且其因身體狀況不佳常需耗用大量醫療資源，一旦出現活動性結核將帶給身旁照護者及醫療機構之病友一定的健康威脅，定期監控此類病患之潛伏性結核及活動性結核狀況將可減低結核菌散布之機率。
3. 類風濕性關節炎患者為一多中心之觀察性研究顯示，臺灣類風濕性關節炎患者之丙型干擾素釋放試驗陽性率約為 11%，腫瘤壞死因子阻斷藥物治療，並不影響 IGRA 陽性反應之盛行率。惟此一族群之 IGRA 陽性反應之盛行率，低於其他結核病高危險族群如洗腎患者等，是否因自體免疫疾病及使用免疫抑制劑之故，或是年齡分布之影響，有待收案結束之後，與其他子計畫收案之世代相較，即可作一評估。在將來接續追蹤丙型干擾素釋放試驗數次之後的結果得到之後，依照 IGRA 的時序性變化，可推估在台灣新感染結核及潛伏性結核復發在此一特殊族群之風險。相關之數據可作為制定本國對於此一病人族群，潛伏性結核感染治療準則之實證證據。
4. 在北台灣一醫學中心之洗腎中心調查，長期洗腎透析之患者其潛伏性結核感染的盛行率為 18.5%。接受血液透析與腹膜透析模式不同的兩組，其潛伏性結核感染的陽性率相似，並不因血液透析組會有經常性的群聚活動(每週二到三次的到醫院洗腎)，而有較高的潛伏性結核陽性率。年齡增長在多變數迴歸分析下，是與 QFT-TB Gold 篩檢陽性最為相關的指標。可建議在資源有限之下，優先針對年紀大於 50 歲以上病友作篩檢諮詢。
5. 針對第二型糖尿病人，本研究初步結論為第二型糖尿病人可能為潛伏結核感染之高危險群，本研究並未見到潛伏結核感染與血糖之高低或糖尿病發病時間長短間之相關性。另外 55 歲以上的糖尿病人或糖尿病發病年齡在 50 歲以上者，為潛伏結核感染的高危險群。可針對這一族群之病患，利用 interferon gamma release assays (IGRA) 以

QuantiFERON-TB Gold In-tube (QFT-IT) method 檢測找出其中潛伏結核感染之個案，持續追蹤或施行預防性藥物治療，以達到預防糖尿病高危險群發生肺結核感染之目的。下一階段的研究可分為兩方面進行：其一為繼續研究糖尿病與高結核感染發生之可能機轉，可能須發展基因研究與設計前瞻性研究找出其間之因果關係。其二為針對潛伏結核感染之糖尿病人進行預防性治療研究，確定預防性治療對於糖尿病人潛伏結核感染者是否有其效力，以做為日後政策訂定之參考。

6. 在 NTM 在 RCW 的高盛行率造成使用 TST 可能會有較高的 cross reaction。而且這些呼吸道的 NTM 往往是 AFS 陽性，在培養報告確定以前，會與 TB 無法區分。且由於 QuantiFERON 較 TST 而言，其侵入性及相關不便均較低，建議對於 RCW 相關人員定期篩檢 LTBI，並且在台灣地區使用 QuantiFERON 作為 LTBI 篩檢工具會比 TST 合適。同時美國 FDA 已核准 QuantiFERON 用來診斷結核感染，但須配合放射檢查、感染風險評估及其他醫療診斷工具。並且在曾接種卡介苗的個案，建議使用 QuantiFERON 來取代 TST 以降低 false positive rate。所以我們建議對於 RCW 住民以及工作人員應該定期篩檢 LTBI，並且在台灣地區使用 QuantiFERON 會比 TST 合適。
7. 我們在兩家長照機構進行潛隱性結核病患的治療，目前參加篩檢與治療之個案皆無結核新增病患的通報，且個案服藥配合性良好，除偶有精神不濟之狀況外無明顯副作用。目前疾管局正推行 13 歲以下孩童潛隱性結核病患的治療計畫，未來還希望能進一步推廣到其他族群，而由於台灣 65 歲以上老人肺結核的問題，特別需要防治，而這些 65 歲以上老人，除了居家由家人照顧之外，其餘的老人，大部分住在所謂的長照機構，也由於這些老人住於長照機構之中，可能有交叉感染的可能，必須加以防範。我們建議執行的流程如下：當有長照機構疑似群聚肺結核通報的時候，衛生局與地段護士先進行接觸者的篩檢，包括胸部 x 光檢查與皮膚試驗檢查，若有疑似肺結核病患，則加驗痰液三套。若有抹片或培養陽性者則當肺結核先行治療，而其他病患，則依據皮膚試驗結果，若無疤，則以 10 mm 為標準，若 ≥ 10 mm 以上為陽性，應接受潛隱性結核的治療，若有疤則以 15 mm 作為標準，若 ≥ 15 mm 以上為陽性，應接受潛隱性結核的治療。若經費許可則所有的接觸者接受 QFT-IT 的檢查，QFT-IT 陽性者接受潛隱性結核的治療，治療中的病患會在投藥後，於第 3、12、24、36 週確認肝功能 (SGOT, SGPT 與 total bilirubin)，以確保在治療期間給予 INH 之用藥安全。
8. 肺癌病人具有高齡、多合併疾病、同時可能接受具細胞毒性化學治療藥物的臨床因子，是可能發生活動性結核病的高危險族群，我們

的研究顯示台灣新診斷肺癌病人中合併潛伏結核感染的比例接近32~40%，相當值得我們重視。此外，肺癌病人合併高齡與抽煙史是合併潛伏結核感染的高危險族群，應該在接受治療前進行潛伏結核感染檢測，並密切追蹤將來發生活動性結核病的可能性。

9. 以台灣現在每十萬人口約 80/10 萬人年的肺結核發生率狀況下，IGRA test 在醫院新進員工盛行率並不高，於TB暴露發生後，約有14.29-9.43%的醫護人員會發生陽轉，為一可行的追蹤方法，建議追蹤時間為暴露3個月後，應可偵測大部分陽轉個案，但此測驗之陽性預測率(positive prediction rate)及陰性預測率(negative prediction rate)尚無法估算，因TB發病率低且有較長潛伏期，仍須繼續追蹤，才能提供更重要的政策依據。

■ 計畫主題四、探討結核病抗藥性之相關臨床因素及困難個案診治

4-1 抗結核藥物肝傷害的生物標記及療程中發生肝炎患者之不同加藥流程的成效比較，並進一步針對具嚴重肝硬化病患之二線抗結核藥治療處方探討

1. 我國結核病病人約有26%發生治療中肝炎。治療中肝炎發生時，血中IL-10、MCP-1與TNF- α 之上升與ALT之上升較有平行之關係，IL-6、IL-17與IFN- γ 之上升與ALT之上升較無平行之關係。pregnane與CYP1A1基因之SNP與抗結核藥物肝傷害之間有無關係，目前尚難以斷定。無論是細胞激素或藥物代謝基因，都需要做更多病例之研究。
2. 不論標準加藥組或緩慢加藥組，於肝炎恢復後，其重新用上第一線標準抗結核藥物的成功率相同。標準加藥組可縮短加藥所需耗費的時間，可能可以縮短結核病人具有傳染力的時間，但目前個案數太少，須更大型的研究來支持此一推論。
3. 建議對於治療後肝功能異常者，需常規以腹部超音波篩檢慢性肝病，而對肝硬化病患(Child A to C)有極高肝毒性風險，實無必要經由一線藥物標準處方治療，徒增風險。

4-2 重度肺結核與複雜性多重抗藥性肺結核之治療策略及影響臨床治療成效因素

1. 在重度肺結核研究方面，PZA的延長使用是否會影響復發率，建議往後的研究應以更嚴謹的前瞻性研究進行，以解決臨床醫師對PZA是否延長使用無共識之問題。此外，複雜性多重抗藥性肺結核或因副作用而被迫放棄治療之個案在結核病的防治上一直是一大困擾，探討出新的治

療用藥是現在全球急迫需要解決的議題。評估至目前的研究結果我們認為 Linezoid 對複雜性多重抗藥性結核病的治療是確實有效的藥物。但由於疾管局對於使用 Linezoid 的患者條件評估、補助經費等種種考量及政策上的限制，使得中區團隊有幾位原本可能收案的困難治療結核病患者未能通過用藥補助申請而無法使用 Linezoid 治療，也相對使得收案數一直無法增加，其他地區團隊合作醫院也反應因用藥經費問題以致不利收案，我們相信還有更多潛在個案也因有用藥申請困難的考量而無法給予治療；因此我們強烈建議並希望將來主管單位對於 Linezoid 這項有效的抗結核藥物能更開放使用標準，未來在政策的支持下能進行更大型、人數更多、時程更完整的研究，並期以第五類抗結核病藥物提升台灣 MDR 肺結核病患治療之成效及將來提供 CDC 制定 guideline 參考。

4-3 「不良結核病醫療處方及早介入改善措施模式」之建立與評估

1. 基本上，病人之藥物治療應符合結核病藥物指引之規則，目前結果看來不符合標準規則比例仍然偏高。本計畫之目的期望未來在本程式系統穩定後，能讓第一線醫護人員醫師瞭解不良醫療處方的用藥歷程，包含用藥組合與開藥天數，並透過病歷審查會議，共同討論開立不良藥物處方的原因，以提昇醫療品質、病人用藥安全與結核病完治率。
2. 結核病的治療需要幾種以上之抗結核藥物同時進行，如新病人治療期程主要為先 INH+RMP+PZA+EMB 2 個月，再 INH+RMP+EMB 4 個月。在初期，藥物交互作用或是病人產生藥物不良反應（副作用）是仍是無可避免的。因此臨床醫師往往會因這些情況的發生進而可能開立非標準處方之規則，亦即類似調整藥物之行為，這些結果可能很難完全認為是錯誤，而是有其臨床上專業考量，實際上有一些是可以被認同的可以在未來納入考量。本計畫向專家詢問之可接受之用藥組合（見附錄三、附錄四），這些可被接受的組合應也該寫入程式中，特別說明有哪些組合是可接受的。因此，若有一套完整的不良醫療藥物處方系統，將有助於提供臨床醫師在開立處方時參考。

4-4 東台灣結核病防治計畫

加強山地鄉結核病防治

花蓮縣山地鄉依然是結核病的高發病地區，接觸者檢查可以早期發現許多病人，本研究的發現率高達 1.28 %，和全國發生率 57/100000 相比，差異達 20 多倍，這証實本研究的品質良好，也証實接觸者檢查的重要性。其他輔助性的辦法例如社區篩檢，實驗室通報也增加許多早期發

現的助益。至於治療方面則因為時間太短，暫時無法看出成績。

多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

QFT 和 TST 是偵測潛伏性感染的最佳工具，本研究顯示東台灣地區的多重抗藥病患接觸者有很高的潛伏性感染，特別是山地鄉的原住民。已經被感染的接觸者必需小心地偵測是否發病，如果發病需儘早治療。

再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

世衛組織來自 10 個國家的監測數據發現 MDR-TB 的比例，於治療成功後復發或治療後失落再治的結核患者可達 32%。而於治療失敗後再治結核患者可達 49%。在我們的研究中 MDR-TB 的比率遠低於世界衛生組織的監測數據。

伍、計畫重要研究成果及具體建議

本團隊整合包括公衛、基礎醫學與臨床治療各領域的專業人士，為了能在研究期程執行後，於建置結核病資料庫、結核病診斷技術、抗結核藥物與治療方式、了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子以及探討結核病抗藥性之相關臨床因素及困難個案診治部份等面向研發出新工具、新療法及新策略。現將重要且具潛力之研究成果具體建議分述如下：

一、建置結核病完整資料庫及分析應用部分

1. 結核病患者臨床與實驗室的各種資料在一個單一電子資料畫面中清楚呈現、一目了然，管理者與醫護人員容易全盤掌握，有助於結核病患的管理與追蹤治療。電子資料的網路分享與即時傳遞，有助於跨醫療機構的溝通。但是，若僅只是各醫院單獨的電子作業系統，普及度遠遠不如疾管局傳染病網路資料庫。日後若疾管局有意進一步升級傳染病系統通報資料庫，我們也願意提供本研究中所開發出的資料庫模型以供參考。
2. 完整而一系列的臨床資料與生物檢體，做為深入研究結核病的基礎。因為目前對於疾病的治療，強調的是實證醫學，任何有關疾病的研究，最後都必須要回到臨床上證實，因此，完整的資料庫，是不可或缺的材料。我們將努力針對研究所得之資料進行檢驗分析。

二、研發結核病診斷工具與低副作用藥物部份

1. 本計畫建立了一個結核病的快速篩檢系統，可以導正民眾對於結核病難鑑定的迷思。同時，為結核病病患提供一個及早治療的契機。一個快速且高靈敏結核菌檢驗方法針對結核病高危險群的全面篩檢以及治療中病患的追蹤有正面的幫助。建議，待系統建置完成且取得認證後，可以將此系統推廣各結核病檢驗中心，使得結核菌的檢驗可以系統化與制度化，這將有助於台灣結核病的防制工作。此外，在整個研發的過程中，雖高敏感度的平台有非常重要之角色，然而，對於取樣不完全或者取樣不適當的檢體來源，將大幅影響檢測的檢出率，本計畫建議各醫院臨床單位統一痰液檢體的蒐集標準作業程序，以及其核酸抽取的統一方式，因為在本計畫的執行過程中，痰液檢體核酸的抽取以及抽取後的品質將會影響檢驗效果，而痰液又是目前結核病人較易取得之第一線檢體，因此有其標準化程序的需求。另一部分免疫磁檢量部分，本研究藉由免疫磁減量技術的高靈敏度、高專一性及低干擾性的方法學特性，對病人單核球釋出之大量 INF-r 進行檢測，發現有機會建構出更快速、方便、準確的結核病篩檢平台。且磁減量平台為國人自行開發，若能陸續開發運

用於此平台之檢測試劑，將能促成我國檢驗試劑產業跨入國際舞台，並使此平台更趨成熟，促進我國生醫產業之發展。

2. 本 TB 四合一複方製劑，符合 WHO 前兩個月之建議治療，有助於 TB 病患的病情控制，減少結核病的復發及抗藥性的產生。本研究探討在人體單獨或合併使用 HUCHE033 等 CYP2E1 抑制劑/Amidase 抑制劑的體內效果，並提出對其於 INH 誘發肝毒性的可能保護機制，及開發低副作用之異菸鹼醯胺(isoniazid, INH)新複方。在肝病及結核病盛行的台灣，能夠確保病患用藥的安全，並且達到根治結核病的終極目標是每一位臨床醫師的期望。
3. 成功地以亞胺鍵結將 INH 稼接在 SiO₂ 奈米粒子表面，並證明此奈米藥物能有效而安全地進入巨噬細胞體內，大幅增加[胞內/胞外]的 INH 吸收比值。利用物理吸附原理，成功地將 INH 吸附在中孔洞 SiO₂ 奈米粒子的孔洞內，並證明此奈米藥物能有效而安全地進入巨噬細胞體內，有效提高[胞內/胞外]的 INH 吸收比值。
4. 利用此表現 *SPI10* 基因的細胞模式，進行篩選增強 *SPI10* 基因所調控的免疫力之化合物，可望此篩選平台的建立對結核病的藥物研發能提供一個新的策略與方向。

三、了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之相關預測、預防因子部份

1. 本研究經由醫師對結核病患之家屬進行衛生教育宣導，清楚地讓家屬瞭解結核病相關知識，避免恐慌。此外，本研究亦免費提供接觸者另一項新的結核感染篩檢，讓接觸者知道自身是否受到結核菌感染。若檢驗結果呈陽性，待醫師詳細分析治療與否的利益得失，接觸者可自行選擇是否接受藥物治療，若接觸者不願意接受治療，則醫師將告知接觸者結核病初期之症狀，如果日後發病，其本身較有所警覺，得以提早就醫。
2. 由於密切接觸者陽性率較高，建議日後仍需加強對密切接觸者之篩檢。目前國內針對密切接觸者檢查採用胸部 X 光及皮膚結核菌素試驗，在尚未發展出潛伏結核感染之黃金診斷標準以前，建議可暫時將丙型干擾素釋放法列為密切接觸者結核感染篩檢項目之一。亦建議衛生單位建立全國密切接觸者管理系統，每半年至一年需督促結核病接觸者做胸部 X 光檢查，以利日後定期追蹤。
3. 定期監控高危險族群病患之潛伏性結核及活動性結核狀況將可減低結核菌散布之機率。針對慢性呼吸衰竭患者為結核病之高危險群，無論家庭或醫療機構照護者往往需要花費大量的時間及精力來照護這群病患。了解這群病患可能的結核病風險，並進而對自己做好適當之保護，

才能長久對這群患者提供良好的醫療照護。

4. 針對長期接受洗腎的病患 - 結核發病的高危險族群，潛伏結核感染的篩檢，是早期診斷給予預防性治療或對該患者提高警界登號的第一步，界定該族群 18.5%潛伏性結核感染次族群，可對台灣這個仍處在結核中高盛行區的國家，提供預防醫學角度上的探查。尤其是對大於 50 歲以上的病友，因為其潛伏感染陽性率上升，篩檢更是重要。
5. 若將來 QuantiFERON 檢測方式更普遍，成本必能降低。由於 55 歲以上的糖尿病人或糖尿病發病年齡在 50 歲以上者，為潛伏結核感染的高危險群。建議可針對這一族群之病患，利用 interferon gamma release assays (IGRA)以 QuantiFERON-TB Gold In-tube (QFT-IT) method 檢測找出其中潛伏結核感染之個案，持續追蹤或施行預防性藥物治療，以達到預防糖尿病高危險群發生肺結核感染之目的。
6. 由於 LTBI 對於 RCW 住民以及工作人員之健康均有威脅，建議針對此類高 TB 感染風險之處所，能定期篩檢 LTBI。同時，運用侵入性低，且不易受到干擾之篩檢工具(如 QuantiFERON)是較合適的作法。
7. 當有長照機構疑似群聚肺結核通報的時候，建議衛生局與地段護士先進行接觸者的篩檢，包括胸部 x 光檢查與皮膚試驗檢查，若有疑似肺結核病患，則加驗痰液三套。若有抹片或培養陽性者則當肺結核先行治療，而其他病患，則依據皮膚試驗結果，若無疤，則以 10 mm 為標準，若 ≥ 10 mm 以上為陽性，應接受潛隱性結核的治療，若有疤則以 15 mm 作為標準，若 ≥ 15 mm 以上為陽性，應接受潛隱性結核的治療。若經費許可則所有的接觸者接受 QFT-IT 的檢查，QFT-IT 陽性者接受潛隱性結核的治療，治療中的病患會在投藥後，於第 3、12、24、36 週確認肝功能 (SGOT, SGPT 與 total bilirubin)，以確保在治療期間給予 INH 之用藥安全。而由以往我們進行的六家長照機構的經驗，新通報的結核個案皆是新住民或由外院轉來，原本的住民有加入我們篩檢的，QFT-IT 陽性且接受 LTBI 治療者，直到目前為止並無任何發病的案例，當可證實此一策略的確可用於長照機構的結核防治作為。
8. 隨著結核病十年減半與都治計畫的推行，台灣結核病的控制與防治在過去幾年來有顯著的進步，但若要進一步降低結核病的發生率，建立潛伏結核感染偵測的標準作業流程與治療建議有一定的重要性。肺癌病人的存活率隨著治療的進展有顯著的延長，但諸多的臨床因子讓這些病人同時也是將來活動性結核病發病的高危險族群。我們今年的研究顯示這群病人同時合併潛伏結核感染的機會是偏高的，對這群病人進行潛伏結核感染檢測應是符合經濟效益的作法，若是針對同時合併危險因子(如男性、抽煙、過去結核病史、無 BCG scar)的病人來進行，經濟效益更

高。在使用 IGRA 方法進行潛伏結核感染檢測的同時，會有一定的比例出現無法判讀的結果(indeterminate)，我們的研究顯示在肺癌的族群，可能由於合併高齡與其他多種合併症的原因，出現無法判讀結果的比例更高，這些病人很可能意謂著免疫功能不良，更需要密切追蹤未來發生活動性結核病的可能性。

9. IGRA test 在醫院新進員工盛行率 5.83%，於 TB 暴露發生後，陽轉率(latent TB)為 14.28-9.43%。而使用為暴露追蹤建議時間為暴露 3 個月後。由於 IGRA 具有高敏感性及特異性，可使用於院內 TB 暴露追蹤方法，但由於單價較高，建議須繼續進行 PPV 及 NPV 的研究及 cost-effectiveness analysis，以了解是否後續可以與預防性治療加以結合。

四、探討結核病抗藥性之相關臨床因素及困難個案診治部份

1. 我國我國結核病病人約有 26% 發生治療中肝炎。治療中肝炎發生時，血中 IL-10、MCP-1 與 TNF- α 之上升與 ALT 之上升較有平行之關係，IL-6、IL-17 與 IFN- γ 之上升與 ALT 之上升較無平行之關係。pregnane 與 CYP1A1 基因之 SNP 與抗結核藥物肝傷害之間有無關係，目前尚難以斷定。無論是細胞激素或藥物代謝基因，都需要做更多病例之研究。不論標準加藥組或緩慢加藥組，於肝炎恢復後，其重新用上第一線標準抗結核藥物的成功率相同。標準加藥組可縮短加藥所需耗費的時間，可能可以縮短結核病人具有傳染力的時間，但目前個案數太少，須更大型的研究來支持此一推論。對於治療後肝功能異常者，建議需常規以腹部超音波篩檢慢性肝病，而對肝硬化病患 (Child A to C) 有極高肝毒性風險，實無必要經由一線藥物標準處方治療，徒增風險。
2. 針對重度肺結核之研究發現 PZA 的延長使用，不影響其痰液陰轉的速度，而 PZA 的延長使用對於兩年內是否復發而言，沒有顯著差異。PZA 的延長使用是否會影響復發率，建議往後的研究應以更嚴謹的 prospective 研究進行，以解決臨床醫師對 PZA 是否延長使用無共識之問題。
3. 抽煙及糖尿病對於結核病的嚴重程度有高度相關，可提供國家在設定國家結核防治策略(NTP)上的參考。並可讓民眾了解重度結核病、複雜性多重抗藥性肺結核病並非無藥可治，醫療研究單位都積極在研究尋找更有效的藥物，經由臨床上副作用的監測處置及探討，讓民眾知道除了對症用藥治療，患者的感受、忍受度也是被重視的，強化積極配合治療，戰勝結核病的信心。
4. 複雜性多重抗藥性肺結核或因副作用而被迫放棄治療之個案對於結核

病的防治一直是一大困擾，探討出新的治療用藥是現在全球急迫需要解決的議題。根據結核病治療指引多重與廣泛抗藥性結核病治療期間至少需要 18-24 個月，因此目前研究實際達成之目標為比較個案治療前後症狀的改善程度，及觀察探討出可能導致的副作用的處理方式，由目前研究結果顯示 Linezolid 對複雜性多重抗藥性結核病的治療是確實有效的藥物，而副作用也多能妥善處理克服，但是結核病用藥是多項藥物合併治療，除非有對照組，否則單就目前情況很難判定最佳的 regimen combination; 政策限制也使得收案困難重重、人數不如預期，我們期望未來能在政府政策的支持下能進行更大型、人數更多、時程更完整的研究來詳細探討建立台灣困難個案用藥處理模式，並期以第五類抗結核病藥物提升台灣 MDR 肺結核病患治療之成效及將來提供 CDC 制定 guideline 參考。

5. 進行用藥組合是否符合標準處方之結果發現，針對不良藥物處方之個案，以中部地區為例，專家建議應可於每個月開中部醫療院所之病歷審查會議進行討論，邀請臨床醫護人員與個案管理師等，共同瞭解導致開立不良藥物處方的原因為何，例如是病人的身體狀況的影響、治療天數過短、藥物顆數、頻次、劑量不足或過多等，進行溝通與協調，有效降低不良醫療處方率。除此之外，亦有專家提出建議將藥敏資料也寫入系統程式，因藥敏資訊會影響病人的用藥歷程。而對於資料庫之資訊，應加以利用。本計畫因時程的關係，在取得中央傳染病追蹤管理系統資料之時間較原先預估的時間晚，導致資料庫分析與程式設計方面之時間略為不足，部分目標尚無完全達成，故建議後續研究者可針對本研究結果再延伸發展，不斷地修正並改進，以降低不良醫療處方之產生。
6. 針對不良藥物處方之個案，以中部地區為例，專家建議應可於每個月開中部醫療院所之病歷審查會議進行討論，邀請臨床醫護人員與個案管理師等，共同瞭解導致開立不良藥物處方的原因為何，例如是病人的身體狀況的影響、治療天數過短、藥物顆數、頻次、劑量不足或過多等，進行溝通與協調，有效降低不良醫療處方率。除此之外，亦有專家提出建議將藥敏資料也寫入系統程式，因藥敏資訊會影響病人的用藥歷程。而「非標準處方，但仍可接受」之用藥組合部分，建議後續研究者未來應請專家評估後，亦寫入程式，進行測試。另對於資料庫之資訊，應加以利用。
7. 針對山地鄉須要努力做接觸者檢查，才能早期發現病人以減少結核病的傳播，須鼓勵民眾瞭解結核病接觸者檢查的必要性，踴躍參加檢查。對結核病個案須強調治療的重要性，而實驗室通報是另一個可行的方法。同時未來可擴大實驗之樣本大小對防治多重抗藥性肺結核之相關

知識提供更深的了解。此外，由於東台灣潛伏感染遠高於中台灣，這代表台灣各地區可能面對不同程度的威脅，有必要進一步瞭解一般民眾的潛伏感染狀態。QFT 不受卡介苗接種的影響，因此可以用此方法評估台灣各區潛伏感染的狀況。

五、結核病國際研究交流與合作

在國際交流研究部分，由總計畫辦公室籌辦國際研討會，邀請在澳洲投入結核病疫苗與傳染病發病機制研究且已有數篇發表於 Nature 與 Science 期刊的 Dr. Nicholas Paul West 來台，與研究團隊共同探討結核病機轉、應用研發與合作機制。另亦考量大陸結核病疫情對台灣的極巨衝擊與影響，規劃建立與大陸結核病防治重點機構之共同研究交流與合作平台。目前整體進度整合如下：生策中心於 2011 年 3 月 23 日與澳洲百年研究所 Group Head-Dr. Nick West(Centenary Institute 擔任 Vaccine Development and Pathogenesis, Mycobacterial Research Group Head)之國際交流會議，其內容針對治療結核病最新疫苗設計、藥物研發與發病機制之討論，並簽署生策中心與澳洲百年研究所雙方學術合作備忘錄 (MOU)，內容包括研究共同開發合作、研究人員互訪及資訊交流等。在本次台澳結核病交流會議中，本研發團隊亦將研發成果與各界分享，研究團隊發表如何針對潛伏期 TB 的照護感染，還有國防醫學院的藥物與疫苗發展的新策略，加上目前擔任雪梨百年研究所的疫苗研發及病理研究團隊主持人(2010 年 3 月 24 日-World Tuberculosis Day)公開表示其團隊已研發治療 LTBI 的新藥，能在 TB 病患尚未出現症狀且未具傳染性的潛伏階段時將其治癒，並提供新醫療技術之指導與交流，期藉由此機會，能使國內結核病防治專業人才掌握國際研究趨勢與結合重要資源。此國際性研究交流議題亦受工商日報、經濟日報及聯合新聞網等平面及網路新聞媒體揭露報導。

本年度文獻發表與專利申請

期刊

1. Shu CC, Wang JT, Wang JY, Lee LN, Yu CJ. In-hospital outcome of patients with culture-confirmed tuberculous pleurisy: clinical impact of pulmonary involvement. *BMC Infect Dis.* 2011; 11: 46.
2. Shu CC, Wang JT, Wang JY, Yu CJ, Lee LN. Mycobacterial peritonitis: difference between non-tuberculous mycobacteria and *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Infect.* 2011. [Epub ahead of print]
3. Wang JY, Liu CH, Hu FC, Chang HC, Liu JL, Chen JM, Yu CJ, Lee LN, Kao JH, Yang PC. Risk factors of hepatitis during Anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. *J Infect.* 2011; 62(6): 448-55 .
4. Shu CC, Lee LN, Wu MF, Lee CH, Wang JT, Wang JY, et al. The Use of Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 in Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2011 accepted.
5. Wang JY, Shu CC, Lee CH, Yu CJ, Lee LN, Yang PC. Interferon-gamma Release Assay and Rifampicin Therapy for Household Contacts of Tuberculosis. *J Infect.* [Epub ahead of print]
6. Chen DY, Shen GH, Chen YM, Chen HH, Lin CC, Hsieh CW, Lan JL. Interferon-inducible protein-10 as a marker to detect latent and active tuberculosis in rheumatoid arthritis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2011;15:192-200.
7. Chen DY, Shen GH, Chen YM, Chen HH, Hsieh CW, Lan JL. Biphasic emergence of active tuberculosis in rheumatoid arthritis patients receiving TNF α inhibitors: the utility of IFN γ assay. *Ann Rheum Dis* 2011; 71(2):231-7.
8. Feng JY, Su WJ, Chiu YC, Huang SF, Lin YY, Huang RM, Lin CH, Hwang JJ, Lee JJ, Yu MC, Yu KW, Lee YC. Initial Presentations Predict Mortality in Pulmonary Tuberculosis Patients - A Prospective Observational Study. *PLoS One.* 2011;6(9):e23715.
9. Chiu YC, Huang SF, Yu KW, Lee YC, Feng JY, Su WJ. Characteristics of *pncA* Mutations in multidrug-resistant Tuberculosis in Taiwan. *BMC Infect Dis.* 2011;11(1):240.
10. Huang SF, Li CP, Feng JY, Chao Y, Su WJ. Increased risk of

- tuberculosis after gastrectomy and chemotherapy in gastric cancer- A 7-year cohort study. *Gastric Cancer*. 2011;14(3):257-65.
11. Wang JY, Liu CH, Hu FC, Chang HC, Liu JL, Chen JM, Yu CJ, Lee LN, Kao JH, Yang PC. Risk factors of hepatitis during anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. *J Infect*. 2011;62(6):448-55.
 12. Chien JY, Huang RM, Wang JY, Ruan SY, Chien YJ, Yu CJ, Yang PC. Hepatitis C virus infection increases hepatitis risk during anti-tuberculosis treatment. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010;14(5):616-21.

研討會論文

1. Tseng YT, Hsu CF, Wang JY. The role of fluoroquinolone use among severe community-acquired pneumonia patients with final diagnosis of pulmonary tuberculosis in an endemic country. 美國感染症年會.
2. Lee MR, Keng LT, She CC, Lee SW, Lee CH, Wang JY, Lee LN, Yu CJ, Yang PC. Risk factors about *Mycobacterium chelonae*-abscessus pulmonary disease persistence and deterioration. 美國胸腔醫學會年會.
3. Shu CC, Wang JT, Wang JY, Lee LN, Yu CJ. Mycobacterial peritonitis: from *Mycobacterium tuberculosis* to nontuberculous mycobacteria and its association to cirrhosis status. 國際抗癆聯盟年會.
4. Chien JY, Chen YT, Chien ST, Shu CC, Lee JJ, Wang JY, Yu CJ, Yang PC. The outcome of different reintroduction regimens of antituberculosis drugs after hepatitis during anti-tuberculosis treatment. 台灣胸腔暨重症加護醫學會年會.
5. Lee HS, Wang JY, Yu CJ, Lee LN. Emergence of Nontuberculous Mycoacteria during long-term use of inhaled corticosteroid. 美國胸腔醫學會年會.
6. Chen YF, Wang JY, Lee LN. Renal impairment during first-line anti-tuberculous treatment. 台灣胸腔暨重症加護醫學會年會.
7. Hsin-Tien Ho, Tong-Yuan Shih, Ton-Ho Young, Hen-Sheng Lee, Tein-Yu Huang, Cheng-Huei Hsiong, Ka-Fai Fong, Ping Yang and Oliver Yoa-Pu Hu (2011) Novel CYP2E1/Amidase Inhibitor Practically Eradicate INH-induced Hepatotoxicity. APISSX, O6-02.
8. H-T. Ho, T-H. Wang, C-H. Hsiong, W-C. Perng, N-C. Wang, Y-J. Jong, P. Yang, O-Y-P. Hu. Novel NAT2 Haplotypes and CYP2E1 SNPs

- Correlate with Susceptibility of Anti-Tuberculosis Drug-Induced Hepatotoxicity. 25th AAPS Annual meeting and exposition, 2011.
9. Tung-Yuan Shih, Ton-Ho Young, Heng-Sheng Lee, and Oliver Yoa-Pu Hu. Effects of Cytochrome P450 2E1 inhibition on Isoniazid and Rifampicin Induced Hepatotoxicity. 25th AAPS Annual meeting and exposition, 2011.
 10. Wang JY, Lee LN, Yang PC. Interferon-gamma release assay and 4-month rifampicin preventive therapy for household contacts. 國際抗癆聯盟年會.
 11. Wang JY, Lee CH, She CC, Lee, LN, Yu CJ, Yang PC. Predicting latent infection and active disease of Mycobacterium tuberculosis in household contacts. Taiwan-Australia Workshop on Tuberculosis.
 12. Wang JY, Lee LN, Yu CJ, Yang PC. 結核病的診斷含分子診斷的實際應用. 台灣胸腔暨重症加護醫學會 - 結核病診治指引研討會.
 13. Wang JY. Treatment of tuberculosis. 臺灣大學流病及預防醫學研究所 - 全球結核病流行病學.
 14. Chin-Chung Shu, Vin-Cent Wu, Jann-Yuan Wang, Feng-Jung Yang, Tai-Shuan Lai, and Li-Na Lee. Surveillance of latent tuberculosis infection in patients receiving long-term dialysis, Poster in APSR (NO. APSR 2011-ONL-575)
 15. Hsu AH, Lee JJ, Lin CB, Chiang CY, Chen YH. Emergence of Drug Resistance in Tuberculosis in Eastern Taiwan. 3rd Conference of The Union Asia-Pacific Region. 2011 July. Hong Kong, China.

專利申請

1. 製備抗結核病之組合的改良方法及由其製得之醫藥組合物(台灣) ; 申請號: 095125168。
2. 製備抗結核病之組合的改良方法及由其製得之醫藥組合物(大陸) ; 申請號: 201110081640。
3. An improved process for preparation of anti-tubercular combination and pharmaceutical composition prepared therefrom.(美國); 申請號: 12/846476。

藥證申請

1. 抗結核藥物四合一新複方(已於100年8月29日進行新藥查驗登記申請程序)

結語

本整合型計畫為目前已進行至第五年。計畫總主持人除不定期開會討論外，並透過平時與各研究學者或助理間之溝通協調，以便能確實掌握研究之目標與進展。如前述所綜合之具體研究成果，經各計畫主持人共同努力為期一年之投入研究與探討，大部份的初步成果皆顯示了相當的績效，惟少數因臨床實驗等困難度較高者，或遇瓶頸未能突破者，或無法符合本整合型計畫之預期目標者，將於規劃下一階段計畫時，暫緩執行，以期能將經費與資源挹注在績效較佳的計畫，使得本整合型計畫能有更有深入且豐碩之成果。

本整合型計畫之總目標，即在以建置結核病完整資料庫、開發快速診斷工具及低毒性抗結核處方、了解潛伏結核感染之盛行率及進展為活動性結核病之發生率、抗藥性相關因素、困難個案就醫困境及抗結核藥物副作用之處理為主要面向，整合基礎學理探討與臨床應用以產出具體之成果。本研發團隊藉由目前之研究基礎，藉以持續研發歷程呈與累積研發能量，定能確保未來產出之效益，故仍須政府相關單位持續性於經費與資源之挹注。由目前各項實證結果顯示，於本計畫執行完成時所累計的研發成果，定能預期未來在實務上能有效協助我國在結核病預防、診斷與治療等方面的推行，落實結核病十年減半的目標。未來仍須配合行政院衛生署「結核病十年減半全民動員計畫」持續規劃下階段整合型研發計畫，方能達成發現病人、完治病人（Find TB、Cure TB）之最終目標。

陸、參考文獻

- Aragon LM, Navarro F, Heiser V, Garrigo M, Espanol M, Coll P. (2006) Rapid detection of specific gene mutations associated with isoniazid or rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates using non-fluorescent low-density DNA microarrays. *J Antimicrob Chemother*; 57:825-31.
- Brzostek, A., A. Sajduda, T. Sliwinski, E. Augustynowicz-Kopec, A. Jaworski, Z. Zwolska, and J. Dziadek. 2004. Molecular characterisation of streptomycin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Poland. *Int J Tuberc Lung Dis* 8:1032-5.
- Bang, D., A. Bengard Andersen, and V. O. Thomsen. 2006. Rapid genotypic detection of rifampin- and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* directly in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 44:2605-8.
- Camus JC, Pryor MJ, Medigue C, et al: Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology* 148:2967-73, 2002
- Carrara S, Vincenti D, Petrosillo N, et al: Use of a T cell-based assay for monitoring efficacy of antituberculosis therapy. *Clin Infect Dis* 38:754-6, 2004
- Caws M, Tho DQ, Duy PM, Lan NT, Hoa DV, Torok ME, Chau TT, Chau NV, Chinh NT, Farrar J. (2007) PCR-restriction fragment length polymorphism for rapid, low-cost identification of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol.*; 45: 1789-93.
- Caws M, Thwaites GE, Duy PM, Tho DQ, Lan NT, Hoa DV, Chau TT, Huyen MN, Anh PT, Chau NV, Chinh TN, Stepniewska K, Farrar J. (2007). Molecular analysis of *Mycobacterium tuberculosis* causing multidrug-resistant tuberculosis meningitis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2007; 11: 202-8.
- Chan RC, Hui M, Chan EW, Au TK, Chin ML, Yip CK, AuYeang CK, Yeung CY, Kam KM, Yip PC, Cheng AF. (2007) Genetic and phenotypic characterization of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Hong Kong. *J Antimicrob Chemother.*; 59: 866-73.
- Chang Y-F, Jiao W, Liu X, Chen Y-H, Layne MD, Yet S-F. 2003. Identification of a CArG-independent region of the cysteine-rich protein 2 promoter that directs expression in the developing vasculature. *Am J Physiol: Heart and Circulatory Physiology*, 285:H1675-83.
- Coll P., Aragon L.M., Alcaide F., et al. 2005. Molecular analysis of isoniazid and rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates recovered from Barcelona. *Microb Drug Resist* 11:107-114.
- Cruciani M, Scarparo C, Malena M, et al: Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 42:2321-5, 2004
- Drug-Resistant Tuberculosis – A survival guide for clinicians (2nd ed.) Francis J. Curry National Tuberculosis Center 2008 www.nationaltbcenter.edu/drtb
- Daryl, M., Ralph, H. (1977) . "Improving patient compliance." *Medical Clinics of North American* 61 (4) : 879-889.
- Dumelle FJ, Hopewell PC. The CDC and the American Lung Association/American Thoracic Society: an enduring public/private partnership. *Centers for Disease Control and Prevention: a century of notable events in TB control: TB Notes Newslett*; 2000. p. 23-7.
- East and Central African / British Medical Research Council. Controlled clinical trial of 4 short-course regimens of chemotherapy (three 6-month and one 8-month) for pulmonary tuberculosis: final report. East and Central African/British Medical Research Council Fifth Collaborative Study. *Tubercle*. 1986;67:5-15.

- Espasa M, Gonzalez-Martin J, Alcaide F, et al. (2005). Direct detection in clinical samples of multiple gene mutations causing resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid and rifampicin using fluorogenic probes. *J Antimicrob Chemother* ; 55:860–65.
- Flores LL, Pai M, Colford JM Jr, Riley LW. (2005) In-house nucleic acid amplification tests for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens: meta-analysis and meta-regression. *BMC Microbiol*; 5:55.
- Garcia de Viedma, D.(2003). Rapid detection of resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a review discussing molecular approaches. *Clin Microbiol Infect* 9:349-59.
- Green C, Huggett JF, Talbot E, et al: Rapid diagnosis of tuberculosis through the detection of mycobacterial DNA in urine by nucleic acid amplification methods. *Lancet Infect Dis* 9:505-11, 2009
- Gryadunov D, Mikhailovich V, Lapa S, et al. (2005) Evaluation of hybridisation on oligonucleotide microarrays for analysis of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Infect*; 11:531–9.
- Herrera-Leon, L., T. Molina, P. Saiz, J. A. Saez-Nieto, and M. S. Jimenez. (2005). New multiplex PCR for rapid detection of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 49:144-7.
- Hillemann D, Weizenegger M, Kubica T, et al. (2005) Use of the genotype MTBDR assay for rapid detection of rifampin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. *J Clin Microbiol* ; 43:3699–3703.
- Jen-Jyh Lee, Rong-Lun Wu, Yeong-Sheng Lee, Yi-Chun Wu, Chen-Yuan Chiang. Treatment outcome of Pulmonary Tuberculosis in Eastern Taiwan-an Experience at a Medical Center. *J Formos Med Assoc* 2007; 106: 25-30.
- Jou, R., C. Y. Chiang, and W. L. Huang. (2005). Distribution of the Beijing family genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan. *J Clin Microbiol* 43:95-100.
- Jou, R., H. Y. Chen, C. Y. Chiang, M. C. Yu, and I. J. Su. (2005). Genetic diversity of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates and identification of 11 novel *rpoB* alleles in Taiwan. *J Clin Microbiol* 43:1390-4.
- Jou, R., P. C. Chuang, Y. S. Wu, J. J. Yan, and K. T. Luh. (2006). Drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 12:871-2.
- Marks SM, Taylor Z, Qualls NL, Shrestha-Kuwahara RJ, Wilce MA, Nguyen CH. Outcomes of contact investigations of infectious tuberculosis patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:2033-2038.
- Mori Y, Nagamine K, Tomita N, et al: Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochem Biophys Res Commun* 289:150-4, 2001
- Oluboyo PO, Erasmus RT: The significance of glucose intolerance in pulmonary tuberculosis. *Tubercle* 1990; 71:135-138.
- Orme, I. M. (1997). "Progress in the development of new vaccines against tuberculosis. ." *Int J Tuberc Lung Dis* 1: 95-100.
- Root HF, The association of diabetes and tuberculosis. *New Engl J Med*. 1934; 210:78-127.
- Saribas Z, Yurdakul P, Alp A, (2005) . Gunalp A. Use of fluorescence resonance energy transfer for rapid detection of isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Int J Tuberc Lung Dis*; 9:181–7.
- Sharnprapai S, Miller AC, Suruki R, *et al.* Genotyping analyses of tuberculosis cases in U.S.- and foreign-born Massachusetts residents. *Emerg Infect Dis*. 2002;8:1239-45.
- Varma-Basil M, El-Hajj H, Colangeli R, et al. (2004). Rapid detection of rifampin resistance

- in Mycobacterium tuberculosis isolates from India and Mexico by a molecular beacon assay. J Clin Microbiol ; 42:5512-16.
- World Health Organization, (2006) ."The Global Plan to stop TB, Actions for life-towards a world free of tuberculosis. " Geneva:.
- World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006.
- Wu B, Huang C, Kato-Maeda M, et al: Messenger RNA expression of IL-8, FOXP3, and IL-12beta differentiates latent tuberculosis infection from disease. J Immunol 178:3688-94, 2007
- Yu, M.-c., et al., (2000) Impact of Directly Observed Treatment Short-Course for Pulmonary Tuberculosis in Aboriginal Areas. 胸腔醫學, 15 (1) : 22-28.
- 白冠壬 (1997) ."結核病治療最新趨勢." 慢性病防治通訊 41.
- 江宜平、郭麗芳、陳志榮 (2005) ."Detection of Mycobacterial Infection in Paraffin-Embedded Pathologic Tissues by DNA Polymerase Chain Reaction: Comparison with Conventional Histochemical Stain " 中臺灣醫學科學雜誌 10 (1) : 25-31.
- 江振源、許至仁、黃瑞明、林道平、陸坤泰 (2004) ."Antituberculosis Drug Resistance among Retreatment Tuberculosis Patients in a Referral Center in Taipei " 臺灣醫學會雜誌 103 (6) : 411-415.
- 行政院衛生署疾病管制局： 90 年結核病防治年報。2003 。行政院衛生署疾病管制局 (2002) ."結核病防治工作手冊." 台北：行政院衛生署疾病管制局。
- 李仁智、李俊年、索任、姜義新、林智斌、林等義、蔡永川 (2003) ."Drug Resistance of Mycobacterium tuberculosis in Eastern Taiwan." 慈濟醫學雜誌 15 (4) : 229-234.
- 李仁智. 山地鄉結核病傳染模式之調查研究。行政院衛生署疾病管制局九十三年度科技研究發展計畫，2004。
- 李如萍、邱艷芬. 肺結核病人的服藥遵從性。護理雜誌 1998;45:63-68。
- 柯景馨、蘇文麟、陳永煌、周稚傑 "醫護人員生物性危害：職業性肺結核病例報告." 中華職業醫學雜誌 8 (2) : 101-105.
- 胡漢忠、林昌生、曹昌堯、蔡熒煌、謝孟哲 (2003) ."Antituberculosis Drug Overdose-Induced Multiple Organ Failure: A Case Report and Literature Review." 胸腔醫學 18(1): 64-68.
- 胡曉雲、蔡文正、龔佩珍 (2005) ."肺結核病患未完成治療原因探討." 臺灣公共衛生雜誌 24 (4) : 348-359.
- 徐川洲、沈光漢、許正園 (2005) ."Delayed Treatment and Management of Active Tuberculosis in a Medical Center in Taiwan." 胸腔醫學 20 (6) : 517-523.
- 索任 (2003) ."臺灣防癆工作回顧." 感染控制雜誌 13 (3) : 173-179.
- 梁庭繼、盧建泰、凌昌明、李超群、張寶源、李世傑、嚴寶勝、周紹賓 (2003) ."Imaging of Renal Tuberculosis in Eastern Taiwan: Correlation with Clinical Course and Different Communities." 高雄醫學科學雜誌 19 (6) : 271-277.
- 莊志杰、許玫玲 (2004) ."臺灣結核病防治政策與相關議題：組織發展與通報政策變革." 臺灣公共衛生雜誌 23 (4) : 292-296.
- 郭金龍、李惠中、葉千涼 (2005) ."快速結核菌檢驗與傳統結核菌檢驗方法之比較." 中華民國醫檢會報 20 (2) : 39-44.
- 陳鳳鈴、張嘉蘋 (2005) ."運用賦權照顧一位肺結核病患及家屬於手術前後之護理過程." 慈濟護理雜誌 4 (2) : 96-104.
- 黃建中、吳政華、陳盟勳、蘇勳璧、吳和生、周如文 (2006) ."臺灣地區醫療院所結核菌檢驗狀況調查." 疫情報導 22 (4) : 241-251.
- 楊朝凱、林鴻銓、李岡遠、林恕民、余志騰、郭漢彬 (2004) ."The Effects of Ciprofloxacin

- on Chest Radiographic Regression in Patients with Drug Intolerance or Resistant Tuberculosis" 長庚醫學 27 (4) : 292-299.
- 廖永祥、薛博仁、余忠仁、王淑寬、楊泮池、陸坤泰 (2004). "Drug Resistance Pattern of Mycobacterium tuberculosis in a University Hospital in Taiwan, 1998-2002." 臺灣醫學雜誌 103 (9) : 671-677.
- 趙守典 (2005). "結核病的實驗室診斷法以及分子生物學的應用." 臺灣醫界 48 (9) : 20-22.
- 劉尊榮、陳昶華、蕭如華、楊祖光、蔡人文、馮長風 (2004). "Drug Resistance of Mycobacterium Tuberculosis Complex in Central Taiwan" 微免與感染雜誌 37 (5) : 295-300.
- 蔡幸真、廖永祥、陳映蓉、高純琇、余忠仁、陸坤泰 (2004). "Management of Anti-tuberculosis Drug-related Hepatotoxicity: Comparison of the Fluoroquinolone-containing Regimen and Re-challenge with the Standard Regimen." 胸腔醫學 19 (6) : 453-462.
- 鄭舒倬、黃婉瑩、莊意芬、劉勝芬、索任、陳重達 (2004). "醫療人員結核菌素測驗陽性之意義." 感染控制雜誌 14 (3) : 140-149.
- 鄭心宜、章淑娟、李仁智、賴佩秀、李永盛、江振源、林智斌. 東台灣肺結核病個案管理改善病人之治療結果. 醫療品質雜誌 2010年5月號 第4卷第3期。
- 謝廷徽、陳培哲、高嘉宏 (2004). "結核治療藥物之肝毒性." 當代醫學 31(7): 542-548.
- 謝家如、林麗嬋 (2003). "結核病與個案管理模式." 護理雜誌 50 (2) : 77-81.
- 蘇維鈞 (2002). "結核病診斷技術之最新進展" 臨床醫學 49: 118-22.

附錄、各子計畫期末報告

各子計畫列表及內容索引

計畫主題		子計畫名稱	頁碼
一、建置結核病完整資料庫及分析	收集個案與接觸者臨床表現、治療反應，分析、追蹤與監控個案復發與再發感染情況	1-1 建立完整的結核病資料庫:包含病患臨床表現、治療反應、宿主因子、及結核菌株	1
二、研發結核病診斷工具與降低藥物副作用	發展結核、潛伏結核感染快速、正確、可供公共衛生大量使用且價格低廉之診斷工具或技術 研發適合國人劑型、劑量藥物且低副作用之有效性抗結核藥物	2-1 應用核酸質譜儀與免疫磁減量技術發展快速偵測結核菌及其抗藥性之新技術	19
		2-2 開發抗結核複方製劑及應用代謝酵素抑制劑研製低肝毒性之 Isoniazid、Rifampin、Pyrazinamide 抗結核藥物	85
		2-3 利用奈米科技研發新劑型抗結核藥物	175
		2-4 建立增強 <i>SPI10</i> 基因所調控的免疫力之藥物篩選平台	198
三、探討潛伏結核感染進展為活動性結核病之相關預測、預防因子	建立高發病風險族群接觸者追蹤調查與治療模式，及拒絕接觸者調查相關影響因素之探討與分析 評估不同族群潛伏結核感染之盛行率及有效率之追蹤照顧計畫	3-1 比較兩種預防性治療處方對於結核病家庭接觸者、密切接觸者的預防成效	213
		3-2 結核病高危險族群，包括醫護人員、愛滋病毒感染病患、慢性呼吸衰竭病患、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物 (anti-tumor necrosis factor blockade) 治療之自體免疫疾病患者、血液及腹膜透析病人、長期照護機構、第二型糖尿病患者、以及肺癌病人之潛伏結核感染追蹤調查	253
四、探討結核病抗藥性之相關臨床因素	結核病困難治療個案危險因素之探討與分析	4-1 抗結核藥物肝傷害的生物標記及療程中發生肝炎患者之不同加藥流程的成效比較，並進一步針對具嚴重肝硬化病患之二線抗結核藥治療處方探討	430
		4-2 重度肺結核與複雜性多重抗藥性肺結核之治療策略及影響臨床治療成效因素	461
	建立不當抗結核藥物處方之及早介入改善措施並評估成效，同時建構異常處方自動篩檢系統	4-3「不良結核病醫療處方及早介入改善措施模式」之建立與評估	509
	山地鄉防治介入措施模式之建立與評估	4-4 東台灣的結核病防治計畫	588

子計畫編號： 1-1

子計畫名稱： 建立完整的結核病資料庫：包含病患臨床表現、治療反應、宿主因子、以及結核菌株

主持人： 陳維昭

摘要

目的：建立一個完整的數位化結核病資料庫，詳細收集病患臨床資料和檢體，對於進一步控制、研究結核病，都是十分重要的前置工作。在這個計畫當中，我們建立一個結核病資料庫，其中包含有關病人臨床表現、實驗室檢查結果、影像學、治療經過與反應的電子資料，並且規則收集儲存病患血液。

研究方法：在這個前瞻性的研究當中，我們針對四個醫學中心—台大醫院、高雄醫學大學附設醫院、亞東醫院、以及台北榮民總醫院—的結核病患者，收集其臨床資料，並規則採集血液。

主要發現：截至 2011/12/20 為止，總共收納了 232 位結核病患及 169 位個案家屬進入本研究。結核病個案的平均年齡為 58.3，男女比為 1.8。有 153（65.9%）仍繼續治療中。個案的系統性疾病，以糖尿病居多（19.8%）。有 94（40.5%）的病人痰抗酸性塗片陽性。Isoniazid、Rifampicin、以及多重抗藥的比率分別為 8.6%、1.3%、和 0%。發生肝炎的比率有 10.3%。目前根據所取得的血液檢體，已進行的基因型分析包括：N-acetyltransferase 2、Cytochrome P450 2E1、以及 Toll-Like Receptor 2。初步的結果顯示，N-acetyltransferase 與藥物性

結論及建議：建置一個完整的資料庫，對於傳染病的疫情管理及疾病本身的研究分析，都是最有效的基本步驟，目前研究團隊也有幾篇重要的論文發表。感謝生策會及疾管局積極投入經費支持此項臨床研究計畫。

關鍵詞：結核病、電子資料庫、宿主基因多型性

Abstract

Aim: Constructing a comprehensive database of tuberculosis which includes both clinical information and samples of patients is the key step for successful disease control and clinical research. In this project, we construct a digitalized tuberculosis database containing clinical presentations, results of laboratory tests, radiographic findings, treatment course and response of patients. We also regularly collected and preserved patients' blood samples.

Methods: The prospective study was conducted in four medical centers, including National Taiwan University Hospital, Kaohsiung Medical University Chung-Ho Memorial Hospital, Far Eastern Memorial Hospital, and Taipei Veteran General Hospital. Patients with tuberculosis were enrolled. Their medical information and blood samples were regularly collected.

Main Results: Up to Dec. 20, 2011, a total of 232 patients with tuberculosis and 169 family members were enrolled in the study. The mean age of tuberculosis patients were 58.3 with a male: female ratio of 1.8. Among them, 153 (65.9%) were still under anti-tuberculous treatment. Diabetes mellitus was the most common underlying co-morbid condition (19.8%). 94 (40.5%) had smear-positive pulmonary tuberculosis. The resistant rates of Isoniazid, Rifampicin, and multidrug resistance rate were 8.6%, 1.3%, and 0%. Hepatitis during anti-tuberculous treatment occurred in 10.3% of our study patients. We had performed genotyping for N-acetyltransferase (NAT) 2, Cytochrome P450 2E1, and Toll-like Receptor (TLR) 2. Results showed that NAT2 was associated with drug-induced hepatitis, whereas TLR2 expression was associated with 6-month survival in TB patients.

Conclusion and Suggestion: Constructing a comprehensive databank is an important step for disease control and research. So far the whole study team had published a total of 4 SCI papers in this year. Thanks for the continuous support from IBMI and Taiwan CDC.

Key word: tuberculosis, digitalized database, polymorphism

壹、前言

雖然到目前為止，我們已經擁有有效的抗結核藥物接近六十年，結核病仍是世界上最嚴重的感染症。根據世界衛生組織的估計，在公元 2001 到 2010 年這十年中，世界上大約有三億人被結核分枝桿菌感染，大約會有三千萬人死於結核病[1]。雖然在衛生署疾病管制局「十年減半」努力下，台灣地區的結核疫情，已有明顯的改善，但是，在民國九十八年當中，台灣地區的結核病發生率仍然高達每十萬人口中有 58 人[2]。這樣的流行病學資料警惕著我們，對結核病仍未有充分的了解。任何一種感染症，其臨床表現與治療過程千變萬化，因為這些都是宿主的免疫系統、病原菌、以及環境這三個因子長時間而複雜的交互作用所產生的結果。因此，要想進一步通盤地研究結核病的各種特性，就必須要有一個完整的結核病資料庫，其中包含兩個要件：電子化的臨床資料、以及妥善儲存的宿主檢體。

有系統而詳細的臨床表現（clinical phenotype）登錄，有助於研究者的分析歸類，也才能快速地確定研究對象或族群。也就是說，確定 clinical phenotype，往往是疾病研究的第一部。因此，電子化的臨床資料登錄，應該是越詳盡越好，至少要包含幾個面向：個案基本資料、可能暴露來源、檢驗紀錄、結核病學檢查、影像學檢查、用藥紀錄、臨床症狀變化、以及副作用。

資料庫的第二部分是宿主（結核病患者）的檢體，主要是規則收集各個階段血液的各個成分，包含 DNA、RNA、以及血清（特別是免疫球蛋白）。過去的研究告訴我們，被結核菌感染的人，終其一生，約有百分之五會發病，而決定的關鍵，就在於宿主的免疫系統[3-5]。這樣的檢體資料庫，對於日後進一步分析病患的相關因子、遺傳上的易感性（genetic susceptibility）、抑或是產生藥物副作用的危險因子，將是不可或缺的材料。相信對於結核病與宿主相關的因子之研究，會有極大的貢獻。

主題：建立一個完整的結核病資料庫，其中包含有關病人臨床表現、可能暴露來源、結核菌株的基因型、實驗室檢查結果、影像學、治療經過與反應的電子資料，並且規則收集培養確診病患及其家屬之血液，分離並儲存 DNA、RNA、蛋白質、和血漿，以供進一步進行各種宿主（基因多型性、SNP）之相關研究。

目的：

1. 結核病患者臨床與實驗室的各種資料彙整成一個電子資料庫，使用者可以全盤了解所有狀況。
2. 完整而一系列的臨床資料與生物檢體，可以作為進一步系統性深入研究結核病的基礎。
3. 藉由分析宿主基因多型性與菌株基因型，研究結核病的致病機轉。

100 年度工作項目：

1. 各合作醫院訂定標準化之收案流程
2. 開始收集臨床資料以及相關檢體
3. 預計收案培養確診結核菌患者及家屬 400 人
4. 宿主基因多型性與結核菌株基因型的分析

貳、材料與方法

研究期間：民國 100 年 1 月 1 日 至 民國 100 年 12 月 31 日

研究對象：培養確診為肺結核的病人及其家屬

臨床資料的收集：

- 甲、基本資料：姓名、身分證字號、性別、年齡、就醫院所、病歷號碼、電話、住址、所在地衛生所。除性別、年齡、就醫院所以外，其餘基本資料以代碼儲存。
- 乙、過去病史：陳舊性肺結核、糖尿病、愛滋病、癌症、肝炎或肝硬化、慢性腎衰竭、長期使用類固醇等等，以及家族的結核病史、卡介苗接種情況。
- 丙、結核病相關：通報日期、確診依據、最後日期、以及最後狀態（完治、失落、治療失敗、死亡、或轉出）。
- 丁、檢驗紀錄：包含一般血液學檢查、生化檢查、以及各種血清學檢查。
- 戊、結核菌學檢查：包含歷次抗酸性染色、分枝桿菌培養的結果、以及菌株保存編號。
- 己、用藥紀錄：包含日期、種類、劑量。
- 庚、影像學檢查：包含歷次影像學檢查以及結果判讀。
- 辛、臨床症狀：包含一開始的臨床表現以及治療後的變化。
- 壬、副作用：治療過程中所引起的藥物副作用以及處理方法和結果。

宿主檢體：每位結核病患者於開始治療前和治療兩個月後以及完治前，採取週邊血液，分離出各個成份，進行檢測及保存。對於確診個案之家屬，在說明取得同意後，於研究一開始也採檢週邊血液。需要檢測的部分如下：

甲、免疫細胞的組成：利用螢光染色和流氏細胞儀（flow cytometry）分析週邊血液 T 細胞 Toll-like receptor 的表現情況。

乙、血清免疫球蛋白：分析有無 monoclonal gammopathy。

需要保存的部分如下：

甲、DNA：利用 QIAamp Blood MiniKit（QIAGEN Inc. German）萃取個案之 genomic DNA，以供進一步利用 SNP stream Genotyping System 對與罹病相關之基因，如 toll-like receptor 1、IL-10、IL12、IFN- γ ，與肝毒性相關的基因，如 CYP2E1、NAT2 等從事基因多型性研究。

乙、RNA

丙、所有血清中的蛋白

丁、血漿

High throughput multiplex PCR and Single Nucleotide Polymorphism：每個將要

探討的基因，我們將根據之前許許多多所建立的 SNP 資料庫中，挑出 10-12 個 SNPs 進行分析。進一步，我們將利用網路上公用的軟體—<http://www.autoprimer.com> (Beckman Coulter Inc. Fullerton, CA)，設計 multiplex PCR 以及 single base extension 的引子 (primers)。根據之前發表的研究步驟進行 SNP 反應後，我們將利用台灣大學基因體醫學研究中心 (Center of Genomic Medicine, National Taiwan University) 內基因微陣列中心 (Microarray Core Facility) 的軟體—GenomeLab™ SNPstream® Genotyping System (Beckman Coulter Inc. Fullerton, CA) 進行分析。每一個反應盤上，會進行總共 384 個反應，每一個 multiplex PCR 的反應中，我們將加入 5 ng 的宿主 DNA、MgCl₂ (25 mM)、dNTM 混合液、primer pool (10 μM，包含欲研究之 SNP 以及一些 nucleotide transition)、AmpliTaq Gold 等反應溶液，再加入 3 μL PCR master 混合液後，整個反應盤將會被密封後稍做離心，之後進行 34 個週期的放大，溫度及時間為攝氏 94 度 30 秒、攝氏 55 度 30 秒、以及攝氏 72 度 1 分鐘。最後保持於攝氏 4 度下。

加入 3 μL clean-up reagent 後，先在攝氏 37 度下放置 30 分鐘，接著於攝氏 96 度下保持 10 分鐘，然後進行 primer extension 的反應。加入 7 μL primer extension mixture (SNP primer pool，各 10 μM)、SNPware Extension Mixture 115 μL、SNPware Extension Mixture Dilution Buffer 2126 μL、SNPware DNA polymerase 12 μL、以及水 1718 μL，總共是 4000 μL，保持在攝氏 96 度 3 分鐘後，接著進行 45 個週期的步驟，溫度及時間為攝氏 94 度 20 秒、攝氏 40 度 11 秒，最後保持於攝氏 4 度下。然後以 SNPware Wash Buffer 清洗後，加入 8 μL hybridization solution (SNPware Hybridization Solution)，取 10 μL 反應溶液置入 SNPware tag array plate，再於攝氏 42 度潮濕密封環境中進行雜交反應 2 小時。之後以 SNPware Wash Buffer II 清洗 Tag array 後以真空乾燥，最後利用 GenomeLab SNPstream array imager 呈像，過程中可以檢視圖片以及校正 genotype clusters 來微調螢光偵測的閾值 (cutoff value)。

NAT2 基因型鑑定：根據之前的文獻 [6]，由週邊血液萃取出 DNA 之後進行聚合酶連鎖反應 (PCR)，使用的引子分別為 47 – ggaacaaattggacttg – 64 和 1138 – tctagcatgaatcactctgc – 1119。反應進行 35 個週期，反應溫度和時間分別為 95°C 1 分鐘、59°C 1 分鐘、72°C 1.5 分鐘。PCR 的產物隨即以 ABI Prism 3730 DNA sequencer with the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Foster City, USA) 進行定序。總共分析 24 個 SNPs，包括 111T>C、190C>T、191G>A、282C>T、341T>C、345C>T、364G>A、411A>T、434A>C、481C>T、499G>A、518A>G、578C>T、590G>A、609G>T、622T>C、638C>T、683C>T、766A>G、803A>G、838G>A、845A>C、857G>A、以及 859Del。如果個案有 191G>A、341T>C、590G>A、以及 857G>A 等基因多型性的話，就表示個案是 NAT2 slow acetylator [7]。如果個案同時有兩個變異的 alleles。

Toll-like receptor 2 (TLR2) 胺基酸 A753G 多型性 (核苷酸 G2258A)：萃取個案 DNA 之後，進行 TLR2 的 PCR，使用的引子為 TLR2-F TATGGTCCAGGAGCTGGAGA、TLR2-R TGACATAAAGATCCCAACTAGACAA、TLR2-G GGTCTTGGTGTTCATTATCTTCC、TLR2-A GGTCTTGGTGTTCATTATCTTCT [8]，PCR 的產物直接進行定序以分析基因多型性。

TLR2基因的表现：测定方式如下

1. 於Falcon tube中加入20 uL的anti-human TLR2 mAB (10 ug/mL)
2. 加入50 uL全血，混合後於室溫（20 – 25°C）靜置一個小時
3. 加入1 mL的washing buffer後，在室溫下以500 x g離心1分鐘，以滴管移除上清液
4. 加入30 uL 1:40 FITC-conjugated anti-mouse IgG（MBL, code number IM-0819），於室溫靜置30分鐘
5. 加入1 mL的washing buffer後，在室溫下以5 x g離心1分鐘，以滴管移除上清液
6. 使用OptiLyse C（Beckman Coulter instruments）或是OptiLyse B（for BD instrument）進行融解
7. 加入1 mL蒸餾水於室溫下靜置10分鐘
8. 在室溫下以5 x g離心1分鐘，以滴管移除上清液
9. 加入1 mL的washing buffer後，在室溫下以5 x g離心1分鐘，以滴管移除上清液
10. 將細胞置入500 uL的washing buffer中，以流式細胞儀分析

叁、結果

(4) 納入臨床個案資料、檢體、菌株：

截至 2011 年 12 月 20 日止，共納入 232 個肺結核患者和與 169 個接觸者。各執行醫院個案資料登錄於 Microsoft Access 2003 檔案，由各執行醫院研究助理負責。臺大醫院及亞東醫院由吳慧如、黃苓娟、許瓊方共同負責，高醫由楊玉芳負責。

這 232 個結核病患者的年齡組成與性別如表一，主要都是 65 歲以上的病人 (39.2%)；男性的比例在 44 歲以下的族群較低，而 45 歲以上，則男性明顯高於女性。

在其他系統性疾病方面，納入研究的受試者最常見的是糖尿病 (46, 19.8%)、惡性腫瘤 (35, 15.1%)、慢性腎衰竭 (10, 4.3%)、以及自體免疫疾病 (9, 3.9%) 這四種。結核病個案的惡性腫瘤部位分佈如圖一。在這 232 位肺結核病患當中，一共有 48 (20.7%) 位同時有肺外病灶，侵犯位置如表二。

臨床症狀多為呼吸道症狀，其中以咳嗽最多，佔了 60.8% (圖二)。至於全身性的症狀，則以發燒為最多 (24.6%)。

患者治療之前痰液抗酸性塗片價數如圖三，塗片陽性患者佔 40.1%。對於第一線抗結核藥物的抗藥性如圖四，含有任一抗藥的菌株佔 15.5%，目前並無多重抗藥性結核菌。胸部 X 光顯示，具有兩側病灶的患者佔了兩成 (圖五)，但納入個案中，存在開洞病灶的個案不多，僅僅 4.3%。

截至 2011 年 12 月 20 日止，所有加入計劃的結核病個案，實際收集到血液檢體共 1115 個，平均每人收集 4.8 個血液檢體。

抗結核藥物治療過程中，副作用相當常見，其中最多的是皮膚症狀，超過四分之一的人會發生，其次腸胃不適，大約六分之一。若依據美國胸腔科醫學會與感染症醫學會的診治指引之定義，有 10.3% 的患者發生藥物性肝炎。

此外，所收集的 169 位家庭接觸者的性別與年齡分布如表三。

(5) 基因多型性分析：

目前針對藥物代謝基因多型性進行分析中。初步研究結果顯示，*N-acetyltransferase* 與藥物性肝炎的發生有關，但 *Cytochrome P450 2E1* 則與藥物性肝炎的發生無關。

(6) 接受體的表現情況：

目前針對周邊血液單核球細胞表面 TLR2 的表現量分析，已完成 87 位結核病人及 90 位家屬之分析。初步研究結果顯示，*Toll-like Receptor 2* 與結核病人治療後存活有關。

肆、討論

1.本計畫之新發現或新發明

- 1) 藉由電子化資料庫的設計，建立統一收案登錄頁面，以利個案資料彙整查詢。
- 2) 收集感染發病個案及個案家屬的 DNA、RNA、血清等，配合資料庫的資訊整合已著手進行相關基因分析研究。
- 3) 標準化收案流程可進一步落實患者的追蹤及提升結核病患照顧品質。各執行醫院計畫執行小組每週召開討論會議，追蹤臨床診療的過程。

2.本計畫對民眾具教育宣導之成果

執行計畫過程中，由於參與計畫的醫師群及研究人員皆會與個案及家屬詳細說明計畫執行流程及追蹤的必要，有助於患者及家屬對於結核病傳染的認知及對治療必要性的認可，藉此也可加強防疫措施。

伍、結論與建議

建置一個完整的資料庫，對於傳染病的疫情管理及疾病本身的研究分析，都是最有效的基本步驟，目前研究團隊也有幾篇重要的論文發表。感謝生策會及疾管局積極投入經費支持此項臨床研究計畫。

除此之外，我們會陸續針對結核病診治上重要的議題，利用所建構的資料庫資源，逐步開始進一步的分析研究。希望未來能夠讓台灣在結核病的研究上，有更出色的表現。

陸、計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

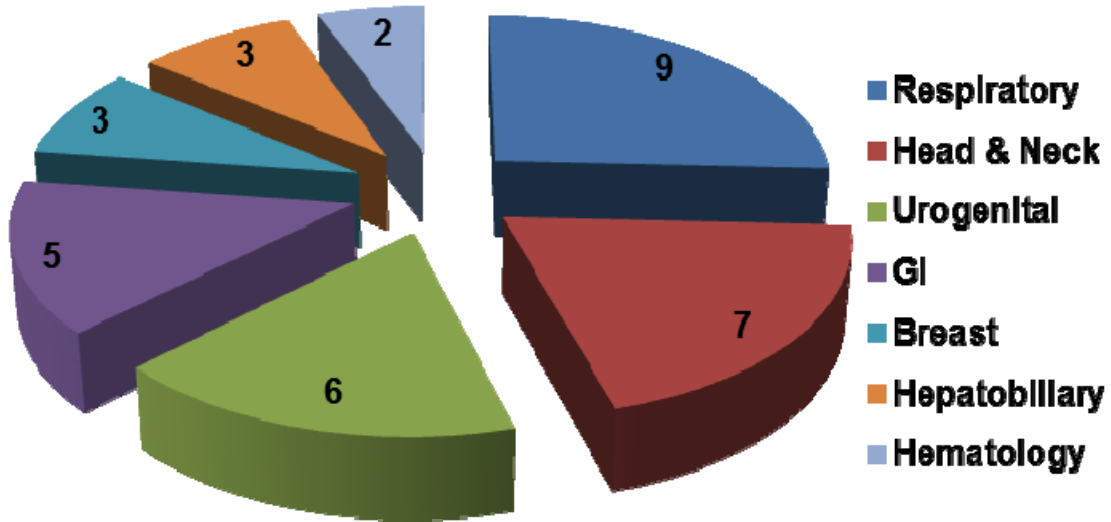
- 1) 結核病患者臨床與實驗室的各種資料在一個單一電子資料畫面中清楚呈現、一目了然，管理者與醫護人員容易全盤掌握，有助於結核病患的管理與追蹤治療。電子資料的網路分享與即時傳遞，有助於跨醫療機構的溝通。但是，若僅只是各醫院單獨的電子作業系統，普及度遠遠不如疾管局傳染病網路資料庫。日後若疾管局有意進一步升級傳染病系統通報資料庫，我們也願意提供本研究中所開發出的資料庫模型以供參考。
- 2) 完整而一系列的臨床資料與生物檢體，做為深入研究結核病的基礎。因為目前對於疾病的治療，強調的是實證醫學，任何有關疾病的研究，最後都必須要回到臨床上証實，因此，完整的資料庫，是不可或缺的材料。我們將努力針對研究所得之資料進行檢驗分析。

柒、參考文獻

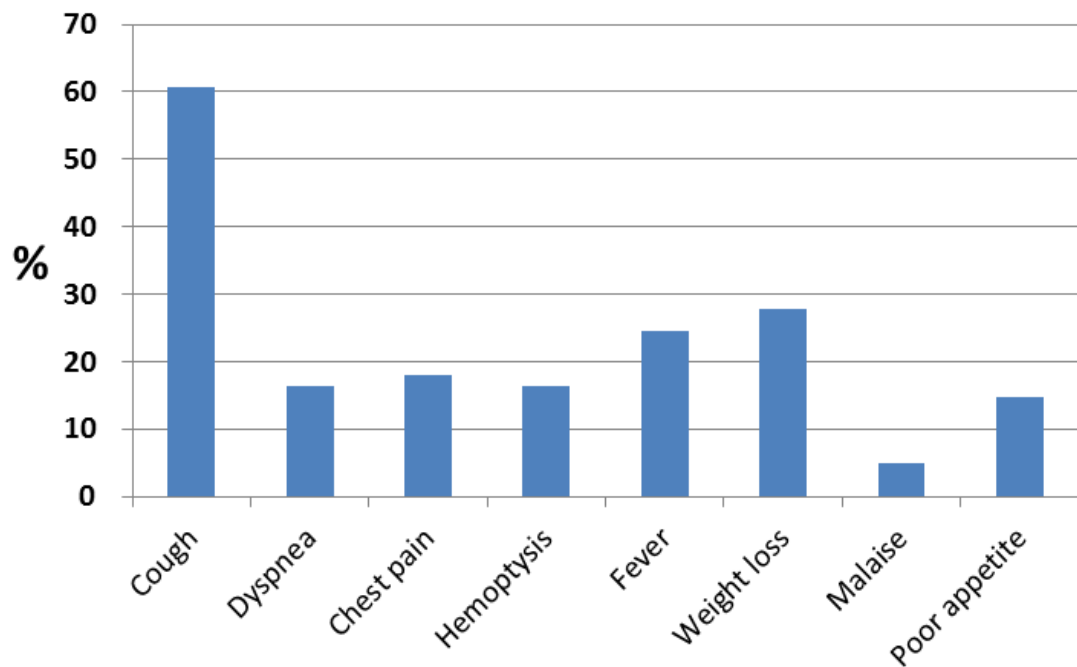
1. World Health Organization. Group at risk: WHO report on the tuberculosis epidemic. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1996.
2. Center for Disease Control Taiwan. CDC Annual Report 2009. 4th ed. Taipei: Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C (Taiwan); 2009.
3. Ellis BA, Crawford JT, Braden CR, *et al.* Molecular epidemiology of tuberculosis in a sentinel surveillance population. *Emerg Infect Dis.* 2002;**8**:1197-209.
4. Lambregts-van Weezenbeek CS, Sebek MM, van Gerven PJ, *et al.* Tuberculosis contact investigation and DNA fingerprint surveillance in The Netherlands: 6 years' experience with nation-wide cluster feedback and cluster monitoring. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003;**7**:S463-70.
5. Sharnprapai S, Miller AC, Suruki R, *et al.* Genotyping analyses of tuberculosis cases in U.S.- and foreign-born Massachusetts residents. *Emerg Infect Dis.* 2002;**8**:1239-45.
6. Lahiri DK, Nurnberger JI, Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic acids research.* 1991;**19**:5444.
7. Hein DW, Grant DM, Slim E, *et al.* Human NAT2 alleles (Haplotypes). Arylamine N-acetyltransferase Gene Nomenclature Committee; 2008 [updated May 27]; Available from: <http://louisville.edu/medschool/pharmacology/Human.NAT2.pdf>.
8. Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, *et al.* Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res.* 1989;**17**:2503-16.

捌、圖表

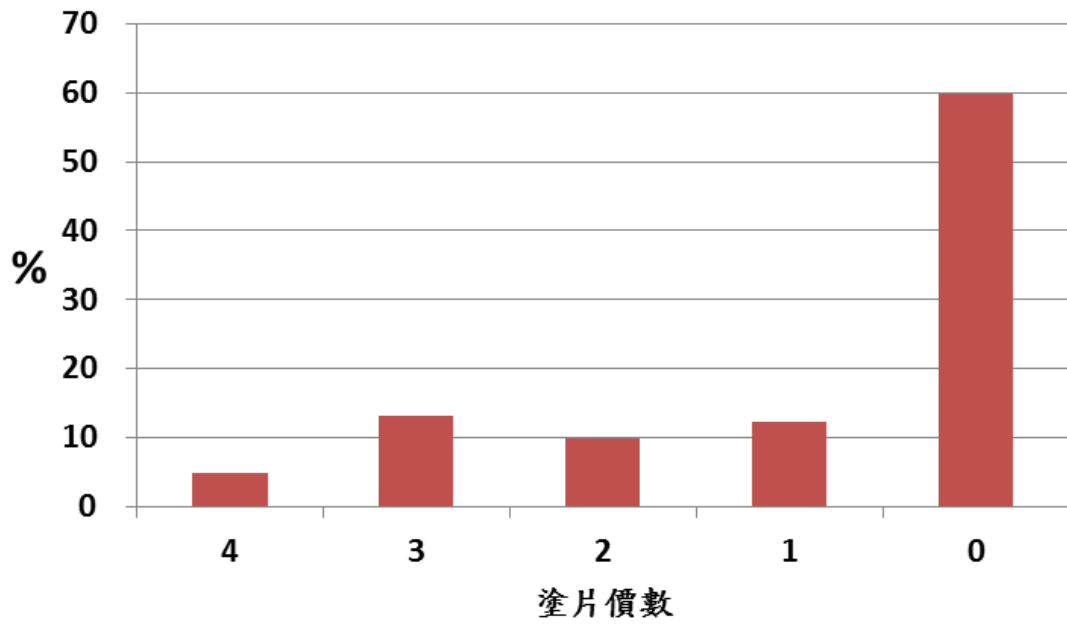
圖一、納入結核病個案惡性腫瘤部位分佈



圖二、病人之臨床症狀

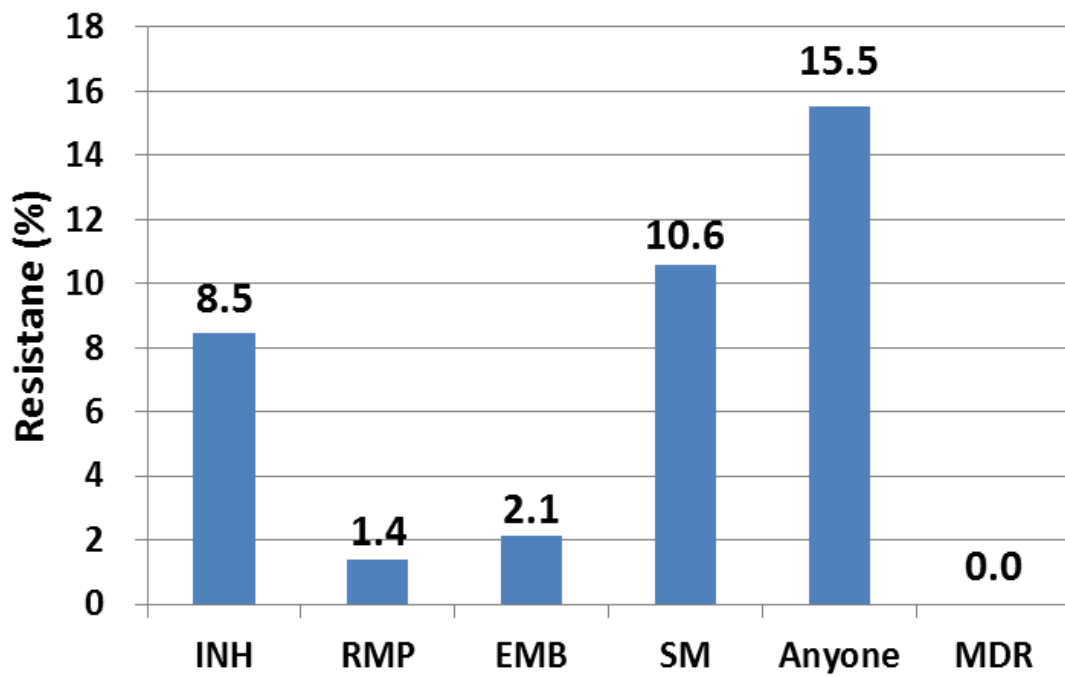


圖三、患者痰液抗酸性塗片價數

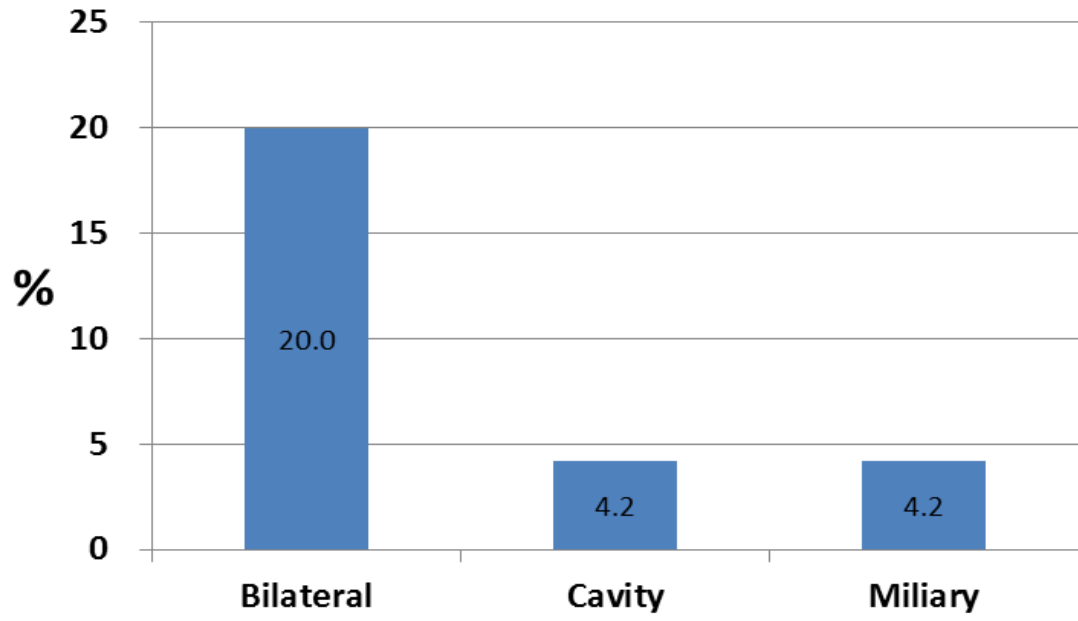


85

圖四、患者治療前結核菌株的抗藥性



圖五、患者治療前胸部 X 光病灶型態



表一、納入個案的年齡性別組成

年齡層	受試者	
	232 人	男女比
15 – 24	13	0.2
25 – 34	20	0.4
35 – 44	23	1.1
45 – 54	41	1.9
55 – 64	44	1.4
65 +	91	4.7

表二、肺外結核的侵犯位置與人數

	N (%)
Pleural effusion	14 (6.0)
Lymphadenopathy	12 (5.2)
Skeletal	10 (4.3)
Peritonitis	8 (3.4)
Urine	2 (0.9)
CSF	1 (0.4)
Blood	1 (0.4)

表三、104 位家屬的年齡與性別組成

	≤ 20	≤ 30	≤ 40	≤ 50	≤ 60	≤ 70	≤ 80	> 80	總計
人數	28	23	23	42	31	8	11	3	169
男性	16 (57%)	12 (52%)	5 (22%)	16 (38%)	16 (52%)	3 (38%)	2 (18%)	0 (0%)	70 (41%)

子計畫編號： 2-1

子計畫名稱： 應用核酸質譜儀與免疫磁減量技術發展快速偵測結核菌及其抗藥性之新技術

主持人： 蘇維鈞

分項計畫 211. 發展核酸質譜儀結核桿菌抗藥性快速偵測系統

摘要

本計畫欲利用核酸質譜儀的高敏感度特性及自行研發設計的探針做為偵測特定基因序列的方法，應用於臨床結核分枝桿菌的早期快速檢測以及多重抗藥基因突變偵測。結核桿菌為引起結核病的病原菌，結核病為世界上非常重要的慢性傳染病，根據世界衛生組織最新統計，全球 2008 年新增結核病人數目即超過 940 萬人(發生率約平均每十萬人中有 139 人)，並有 200 萬人死於此疾病。全球約有三分之一的人口被結核桿菌感染，其中又以亞洲(55%)、非洲(30%)最多，大部分的人雖會因自身免疫力而不發病，但仍需面對終身可能再活化(reactivation)的潛在危險，其中約有 10% 被感染的人會再活化而發病。如能在受感染的潛伏期發現並接受治療，可有效減少日後發病的機會，也可以防止這些潛伏型帶原者繼續將結核菌傳染他人；發病後若即時接受適當藥物治療，幾可完全治癒，但若不予治療或錯失治療黃金時期，約有一半的病人會在發病後三年內死亡。此外有四分之一的結核病死亡患者與愛滋病毒有關，顯示結核病與愛滋病的合併感染，更是當前結核病防治工作中的一項重大挑戰。在台灣，結核病是個案數最多的法定傳染病，結核病的防治亦為政府防疫重點之一。根據行政院衛生署統計，全台灣每年至少新增 1 萬 5000 名病例，發生率為每十萬人口 63.7，死亡數為每十萬人口 3.3。近年來因藥物濫用產生的多重抗藥結核分枝桿菌(MDR-TB, multidrug-resistant tuberculosis)及廣泛抗藥性結核分枝桿菌(XDR-TB, extensively drug-resistant tuberculosis)更是嚴重威脅結核病的管控。傳統鑑定結核分枝桿菌及其抗藥性的方式主要仍以實驗室培養為主，由病人痰液進行抗酸性染色後，塗盤培養至藥物感受性試驗，耗時約為六至八週，極易錯失早期診斷早期治療之黃金時間。近年來，分子生物學的進步對於結核分枝桿菌抗藥機制更為了解，因此，也發展出以此為基礎的分子診斷技術，減短篩檢時程，然而操作便利性、特異性與敏感度仍倍受挑戰。為此，本計畫將應用核酸質譜儀技術，以 SEQUENOM MassARRAY MALDI-TOF MS 平台進行分枝桿菌的鑑定以及抗藥基因突變偵測。此系統具有高敏感度與高產量的優點，在操作上，從反應進行到上機分析，只需一到兩個工作天，可顯著改善傳統檢測耗時甚久的情況，大幅提升效率，加上其高敏感度特性，本計畫預計將來可應用於門診病人痰液中進行檢測，並進一步挑戰以呼出冷凝液做為檢體進行偵測，有效把握防疫先機。此外，設計聚合酶鍊鎖反應的引子搭配特異性探針進行單一核苷酸延伸反應，除可大幅提高檢測病原菌的特異性外，更可以進行多基因突變整合同時偵測，本計畫目前完成抗藥基因突變檢測，包括：*rpoB*、*katG*、*pncA*、*embB*、*rpsL*、*inhA* 等基因共十多種突變整合於一至二個反應中同時進行分析，大幅降低反應成本。本計畫已達到以下目標：專一鑑定出結核桿菌、有效偵測檢體內少量病原菌、抗藥性偵測及早預測抗藥結核分枝桿菌，能成為目前臨床診斷與防治微生物感染疾病之有力的輔助工具，以提供結核病患更優質的照護與正確完善的診治方案。

Abstract

The specific aims of this proposal are to achieve early detection of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and its gene mutations confer to drug-resistance in multiplex by high sensitive nucleotide mass spectrometry and our designed specific probes. Tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) infection is the leading cause of morbidity and mortality worldwide. According to recent estimates from the World Health Organization (WHO), 9.4 million new active disease cases were occurred (with incidence of 139 per 100,000 populations) with 2 million associated deaths in 2008. One third of worldwide population are suffered by MTB infection with the highest number of TB cases in Asia (55%) followed by Africa (30%). Although most people are with latent MTB infection due to self-immune defense, 10% of them will fall ill because of reactivation. Early diagnosis and treatment in the incubation period not only can effectively reduce the chance of disease but also prevent latent MTB carriers to continue to infect others. In addition, immediately received appropriate medical treatment after the onset of disease, some can be completely cured while half of patients will die with no treatment or missed the golden time of treatment within three years. A quarter of deaths is correlated to HIV infection indicates MTB and HIV co-infection is a major challenge to current MTB control. In Taiwan, TB is the largest case number of legal infectious disease and it is also one of the priorities in epidemic prevention and control. According to the statistics from the Department of Health, there are at least 15,000 new cases every year with the incidence rate of 63.7 per million population and the death rate of 3.3 per million population. Recently, MDR-TB (multidrug-resistant tuberculosis) and XDR-TB (extensively drug-resistant tuberculosis) due to drug abuse have been a serious threat to TB control. Traditional identification of MTB including its drug susceptibility remains to be based on laboratorial culture method. It takes six to eight weeks to identify MTB from acid-fast stain of patients' sputum to plate culture and drug susceptibility test. Early diagnosis and treatment may be easily missed. In recent years, advances in molecular biology facilitates comprehended understanding the mechanism of MTB drug resistance and, therefore, as a basis to develop molecular diagnostic techniques to minimize the screening time cost. However, convenient operation, specificity and sensitivity are still much challenge. To this end, this proposal have utilized SEQUENOM MassARRAY platform based MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) to perform the identification of MTB and analyze its gene mutations related to drug resistance. This has advantages in high sensitivity and high throughput. Technically, it takes one to two days from biochemical reaction to analysis on the machine. This can significantly improve the long time duration of traditional analysis and greatly enhance the efficiency. Besides, high sensitivity facilitates this platform to be applied to sputum examination even further to respiratory condensate analysis of out-patients for effectively grasping the prevention opportunities. Furthermore, combination of primers for PCR and specific probes for single nucleotide extension reaction can not only enhance the specificity but also multiplex detect gene mutations including up to twenty residues among *rpoB* · *katG* · *pncA* · *embB* · *rpsL* · *inhA* genes. In conclusion, this proposal achieved followed aims: 1. Specifically identification of MTB; 2. Efficiently detection of rare pathogen in the sample; 3. Detection of gene mutations related to MTB drug resistance. This is presented on clinical diagnosis and prevention of MTB infection to powerful aid to provide better care of TB patients complete treatment with correct solution.

壹、前言

結核病是由結核桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 引起的飛沫傳染病，結核桿菌屬於分枝桿菌屬的一員，分枝桿菌屬在分類上，由約 100 個種組成，其中有數種為以人或動物為宿主的病原菌，包括結核分枝桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、牛分枝桿菌 (*M. bovis*)、麻瘋桿菌 (*M. leprae*)、鳥型分枝桿菌 (*M. avium-intracellulare*)、潰瘍分枝桿菌 (*M. ulcerans*) 和海洋分枝桿菌 (*M. marinum*) 等。

過去由於缺乏有效的治療藥物，結核病患約有半數死亡、四分之一成為慢性傳染源，幾乎等於是不可治之症。1944 年後，結核藥物陸續問世，各國結核病的流行已有顯著的改善。但自 1980 年代起，由於許多國家防治計畫不完善、多重抗藥性結核的產生、愛滋病的盛行及全球人口的快速流動，全球普遍面臨結核病回升的威脅¹。世界衛生組織有鑑於結核病疫情日益惡化，於 1993 年宣布結核病為「全球緊急危機」，呼籲各國重視結核病防治工作，嚴密防範結核病的全面反撲。

目前，結核病是全球單一病原引起最多死亡的傳染病。根據世界衛生組織的統計，全球每秒鐘有一人新感染結核菌，每年約有 1% 人口新感染結核菌，目前合計約有 20 億人已感染結核菌，占全球人口的三分之一，這些已受到感染的人，終其一生都有 10% 的發病機會。每年全球約有 9 百萬新病人，而現有結核病人總數高達 1,620 萬。結核病的病人數占全球所有患病數的 2.5%；以病人數而言，東南亞是全球疫情最嚴重的地區，每年約有 300 萬新病人²。每年全球約有 300 萬人死於結核病，結核病的死亡數是所有「可預防死亡」的 26%。

在開發中國家，結核病的威脅更加嚴重，開發中國家結核病人數占了全球結核病人數的 95%，結核病死亡數則占了全球結核病死亡數的 99%²。結核病高度耗損了社會及經濟的活力，開發中國家 75% 的結核病人屬於 15 歲到 54 歲的生產年齡人口，成年的結核病人因病平均損失三到四個月工作時間，家庭年收入因而減少 20-30%；而若患者死亡，平均會損失 15 年的生產收入。結核病更造成連鎖性的社會問題，在印度，每年有 30 萬兒童因為父母罹患結核病而失學，10 萬婦女因罹患結核病而遭到家庭遺棄。世界衛生組織估計 2000 年全世界約有結核病新案 974 萬人（發生率為每十萬人口 144 人），當年會員國通報新案總數 367 萬人（發生率為每十萬人口 61 人），發現率 42%；痰塗片陽性新案估計有 384 萬人（發生率為每十萬人口 63 人），當年會員國通報痰塗片陽性新案總數 153 萬人（發生率為每十萬人口 25 人），發現率百分之 40。目前新發現的結核病人數仍在上升中，預估到 2005 年全球結核病新案將超過 1,000 萬人，如果不能有效加強全球的結核病防治工作，估計在 2000 年到 2020 年間將有 10 億人新受到結核菌感染，2 億人發病，3,500 萬人死於結核病。

以台灣而言，民國 93 年經通報之結核病個案計 24,161 人，經確診為結核病新案者 16,784 人，結核病發生率為十萬人口 74.11 人。在 38 種報告傳染病中，結核病的病人數約占了 70%，是目前病人數最多的應報告傳染病，平均每 36 分鐘就新發現一名結核病人。民國 94 年 1 月 1 日至 12 月 31 日全國在案結核病個案數 16,227 人。結核病人的登記雖始自民國 46 年，但當時僅限於驗痰陽性的開放性病人，以後逐漸擴大範圍，至民國 80 年，所有活動性結核病人均為通報登記的對象，惟醫療院所通報個案情況不盡理想，登記新案數不能反映實際疫情。民國 86 年 7 月起中央健康保險局實施結核病「不通報不給付」政策、民國 90 年本署疾病管制局辦理結核死亡病患通報之「死亡勾稽」工作後，醫療院所通報登記之結核病人數驟增，疫情統計資料與實際流行情況的差距始逐步縮小。民國 93 年結核病新案 16,784 人中，肺結核占 9 成。依性別區分，男性結核

病人數約為女性的 2.6 倍；發生率則約為女性 2.2 倍。依年齡區分，結核病發生率隨年齡增加而明顯上升，新發現結核病人中 50.3% 屬於 65 歲以上老年人。在縣市差異上，新發生結核病數有集中於都會區的趨勢，民國 93 年新發生數最高的前四名縣市計占台灣地區 37.23%，其分別為台北縣 2,325 案 (13.85%)、台北市 1,435 案 (8.55%)、高雄市 1,286 案 (7.66%)、高雄縣 1,216 案 (7.24%)；結核病發生率有東部較西部高，南部較北部高的趨勢。民國 93 年以花蓮縣發生率最高，達十萬人口 160.79 人，台東縣、屏東縣亦超過十萬人口 100 人。山地鄉結核病發生率十萬人口 272.20 人，為一般地區結核病發生率 (十萬人口 72.35 人) 的 3.8 倍。

台灣早已普遍對嬰幼兒接種卡介苗，無法獲得確切的結核病感染率，目前係針對國小一年級尚未接種卡介苗的學童，全面實施結核菌素皮膚測驗普查，根據其陽性反應比率推估年感染率。由於近年來卡介苗接種率已高達 98%，檢驗樣本數逐年減少，漸已失去其代表性，故推估年感染率更行困難。前揭調查 93 學年度結果，無卡介苗疤者計 2,593 人 (無疤率 1.06%，即接種率 98%)，結核菌素皮膚測驗反應陽性率 7.02%，推估年感染率為 1.11% (PPD RT23 2TU)。民國 93 年台灣結核病死亡率為十萬人口 4.23 人，死亡人數 957 人，占總死亡 0.72%，居死亡原因第 13 位。與過去比較，結核病死亡率在民國 36 年到 93 年的 56 年間下降了 98.6%；在民國 80 年到 93 年的 13 年間下降了 53.2%。死亡人數占了所有應報告傳染病死亡人數的 80% 以上。在民國 93 年的結核病死亡總數中，92.7% 死於肺結核，其餘 7.3% 則為肺以外其他器官的結核病；依性別區分，男性死於結核病之人數約為女性的 3.4 倍，死亡率則約為女性的 3.3 倍，與過去相較，男性結核病死亡高於女性的現象，有越來越明顯的趨勢 (詳後附趨勢圖)；依年齡區分，結核病死亡率隨年齡增加而增高，在全部死於結核病的 957 人中，有 79% 屬於 65 歲以上的老年人，顯示台灣地區結核病死亡年齡分布主要集中於老年人口。在縣市差異上，結核病死亡率與發生率有平行的趨勢：東部較西部高、南部較北部高，及都市普遍較低。民國 93 年結核病死亡率以台東縣最高，達十萬人口 11.04 人，其次為屏東縣、花蓮縣。山地鄉死亡率十萬人口 25.02 人，為一般地區結核病死亡率 (十萬人口 4.04 人) 的 6 倍。在國際的比較方面，我國結核病每年平均新發生個案約 15,000 人，死亡個案約 1,300 人，發生率是美國的 13 倍 (66.67/5.1)、日本的 2.7 倍 (66.67/24.8)，降低結核病的發生率，是我國傳染病防治之重點。

由於初次感染結核病的患者並無特殊典型症狀，其他症狀如發燒、咳嗽、體重減輕也都不甚明顯，取病患的痰液也不一定可驗出結核菌，因此誤診的發生便可能影響到病人的管理與防疫的效率。早期未有治療藥物前，結核病幾乎被視為不治之症。1944 年後因為結核病藥物陸續問世，各國結核病的流行得到有效控制。在結核病的治療上，若能在受感染的潛伏期發現並立即接受治療，可有效減少日後發病的機會，也可以防止這些潛伏型帶原者繼續將結核菌傳染他人³；發病後若接受適當的結核病藥物治療，結核病幾可完全治癒，但若不予治療，約有一半的病人會在發病後三年內死亡。

然而，在 1980 年後，因為各國防治和用藥計畫的不確實，使得結核病有捲土重來的趨勢，並衍生出多重抗藥性結核病 (MDR)、甚至超級抗藥性 (XDR) 結核病的發生，大大增加了治療結核病的難度，更有可能散播具抗藥性的結核桿菌感染源，對全球結核病防治更是一大威脅。此外，在世界衛生組織於 2009 年 3 月 24 日「世界結核日」所發佈的最新《全球結核控制報告》中顯示，有四分之一的結核病死亡患者與愛滋病毒有關，為原先認定數量的兩倍。結核病與愛滋病的合併感染，更是當前結核病防治工作中的一項重大挑戰。

目前結核菌之傳統實驗室診斷仍以培養為基礎之診斷，包括：以 Acid-fast stain 染色 (需將檢體培養 6~8 週)、利用 BATEC 培養系統偵測微生物碳源與氧氣的使用情

形⁴、培養出細菌後觀察菌落型態、產色及生化反應（如：niacin 生成、硝酸鹽還原以及抗藥性試驗）等，然而，這些方法的敏感度較低且相當耗費時間與人力（需時一至三個月），在檢驗的敏感度上，檢體中含菌量亦須高達 5000-10000 菌量/毫升⁵，才有辦法呈陽性反應。此外，再加上結核菌多重抗藥檢測，通常病人已錯過治療的黃金時期。因此，有別於傳統方法，許多血清免疫學相關的診斷方式，針對結核菌引起的生物標記（biomarker）改變來鑑定，包括：干擾素- γ （IFN- γ ）⁶⁻⁷、介白素-4（IL-4）⁸⁻⁹等，然而，因為敏感度與特異性的限制，常須要多種生物標記結合才能有效辨識¹⁰。近年來，因結核菌全基因體的定序完成¹¹⁻¹²，使得結核菌的檢測進入了分子診斷的領域，包含辨別結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌外，對於結核菌的抗藥性亦可快速檢測¹³⁻¹⁵。這些分子診斷方式包含了：

1. 核酸複製放大（NAA, Nucleic Acid Amplification）測試：目前已有許多的文獻報導，利用聚合酶鏈鎖反應，針對結核分枝桿菌特異性高度保留區的片段放大鑑定¹⁶⁻¹⁷，此方法以呼吸道檢體檢測時，敏感度及特異性可以達 83-100%¹⁵，非呼吸道檢體則較低。而數年前，以此分子診斷方法為基礎的結核菌直接測試（MTD, Mycobacterium Tuberculosis Direct Test）（Gen-Probe Inc., San Diego, CA）與 Amplicor 結核菌測試（Amplicor Mycobacterium Tuberculosis Test）（Roche Diagnostic Systems Inc., NJ），也被美國藥物食品局核可上市¹⁸。
2. 簡化等溫放大技術（Simplified Isothermal Amplification Techniques）：近年來所發展出來的分子診斷法，利用 *Bst* 核酸聚合酶大片段部份的自我循環取代（auto-cycling strand displacement DNA synthesis）特性¹⁹來偵測結核菌。敏感度與特異性都可達 95% 以上²⁰。

除此之外，隨著分子診斷的進步，許多與結核桿菌多重抗藥性有關的基因也被鑑定出，利用聚合酶鏈鎖反應亦可快速診斷出抗藥菌株。隨著技術的改良，對於結核菌鑑定的敏感度、特異性與耗時都有長足的改進，因此，對於檢體種類的適用性也大幅增加，由原本的痰液與呼吸道檢體，已有許多文獻證明週邊血液或尿液²¹等，也可做為檢體來源，增加實驗診斷上的便利。然而，除了敏感度、特異性與耗時的考量外，成本以及輸出量更是實驗診斷上的顧慮。有鑑於此，本計劃利用基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜儀（MALDI-TOF MS, matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry）建立新穎性結核菌偵測平台，此類核酸質譜儀已廣泛應用於許多領域，包含單一核苷酸多型性（SNP, single nucleotide polymorphism）變異偵測²²⁻²⁷、定序²⁸⁻²⁹以及微生物鑑定³⁰⁻³¹等，其高敏感度最少可以偵測十個拷貝數之菌量，此平台的建立除可辨識結核分枝桿菌以及非結核分枝桿菌外，同時也可以鑑定結核抗藥菌株。對於單一檢體，配合適當的引子及探針設計，可以在單一試管中完成各種鑑定最高達三十六種。預計將提供快速診斷策略以為臨床投藥指引，並建立結核病人個人化醫療系統。

貳、本年度欲執行之項目

本一年期計畫，欲執行之特異性項目計有：

1. 完成結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌核酸質譜儀高敏感度與高特異性檢測系統與臨床檢體驗證。
2. 建立核酸質譜儀偵測系統，並量測其靈敏度與最小偵測核酸拷貝數。
3. 蒐集臨床結核病人檢體進行質譜儀鑑定，並比較與傳統方式鑑定之敏感度、特異性與所需時間。

4. 建立病人呼出氣冷凝液檢體結核分枝桿菌檢測平台。

參、材料與方法

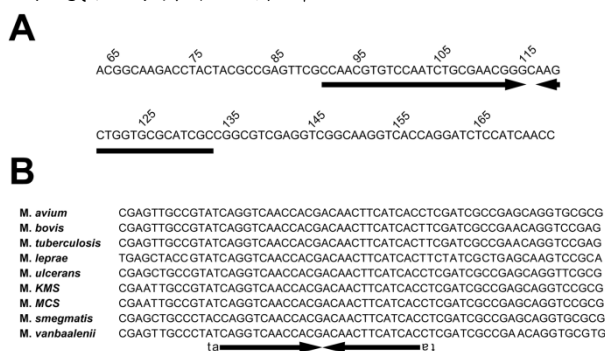
本計劃為達成主旨目標與工作項目，詳述其研究方法與過程如下：

目標一、完成結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌核酸質譜儀高敏感度與高特異性檢測系統與臨床檢體驗證。

研究方法

1. 結核分枝桿菌與非結核分枝桿菌核酸資料庫蒐尋和比對

臨床檢體來源一般混有多樣菌種，造成鑑定上的困難，必須找出各菌株相似或相異之處才可區分不同菌種。由於核酸質譜儀為分析菌之核酸部份，因此此部份主要目標在於蒐集結核桿菌的具特異性基因或序列片段，比較各菌株核酸序列片段，找出同種共同性及異種專一性。將此異同片段設計引子與探針。以專一鑑別出該種病原菌，並不致與其他相似菌種混淆。各菌種序列可由目前已知的文獻資料及線上資料庫進行比對與分析，整理歸類並挑選出適合鑑定區分目標病原菌的基因序列。如下圖所示（圖一），經過核酸序列排列比對、分析，找出其具特異性及保留性之核酸序列，設計出具相當專一性及敏感性的引子及探針。



圖一、結核分枝桿菌專一性探針設計區域圖示

以結核分枝桿菌之 MCE3 基因列序（圖一 A）為參考序列，其中箭號即為特異性探針序列位置。另一方面，以非結核分枝桿菌 *gyrA* 基因序列為參考序列，比對所有非結核分枝桿菌，箭號即為特異性探針序列位置（圖一 B）。

2. 結核分枝桿菌抗藥基因突變點蒐集比對

由臨床文獻及現有病歷檢體，找出發生率較高的抗藥基因群，比對出各抗藥基因序列內突變點。設計針對各抗藥基因具特異及專一引子與探針，並結合結核菌鑑定之專一引子及探針，期望可同時完成結核菌株之鑑定與臨床用藥之指引。

其中，以瑞比新（rifampin，簡稱 RMP）抗藥性生成為例，結核菌會對 RMP 藥物有抗藥性，主要是由於核糖核酸聚合酶（RNA polymerase） β -subunit 的 *rpoB* 基因中一段 81 個鹼基對區域去氧核糖核酸（DNA）發生突變所造成。多重抗藥性菌株之發展與 *rpoB* 基因發生突變有關，通常對 RMP 具抗藥性之菌株，約有 90% 同時對 INH 具有抗藥性，因此，RMP 抗藥性可以當成具有多重抗藥性與否的指標。先前研究由聚合酶連鎖反應產物進行 DNA 自動定序的結果，得知台灣地區抗藥性菌株 *rpoB* 基因上多變區域發生突變的位置及頻率如下表（表一）：

突變位置	核.酸改變型	胺基酸改變型	菌株數量	頻率 (%)
508	ACC→ATC	Thr→Ile	1	0.6
513	CAA→CCA	Gln→Pro	5	3.1
	CAA→AAA	Gln→Lys	2	1.2

	CAA→CCG	Gln→Pro	1	0.6
515	ATG→GTG	Met→Val	1	0.6
516	GAC→TAC	Asp→Tyr	5	3.1
	GAC→GTC	Asp→Val	4	2.5
	GAC→GGC	Asp→Gly	2	1.2
	GAC→GCC	Asp→Ala	1	0.6
	GAC→TTC	Asp→Phe	1	0.6
	GAC→GAG	Asp→Glu	1	0.6
517	CAG→CCG	Gln→Pro	1	0.6
522	TCG→TTG	Ser→Leu	2	1.2
	TCG→TGG	Ser→Trp	1	0.6
	TCG→TTC	Ser→Phe	1	0.6
526	CAC→TAC	His→Tyr	14	8.6
	CAC→GAC	His→Asp	5	3.1
	CAC→CTC	His→Leu	5	3.1
	CAC→CGC	His→Arg	3	1.9
	CAC→TGC	His→Cys	2	1.2
	CAC→AAC	His→Asn	1	0.6
	CAC→ACC	His→Thr	1	0.6
	CAC→CGA	His→Arg	1	0.6
	CAC→GGC	His→Gly	1	0.6
531	TCG→TTG	Ser→Leu	75	46.3
	TCG→TGG	Ser→Trp-	2	1.2
	TCG→CAG	Ser→Gln	1	0.6
	TCG→GTG	Ser→Val	1	0.6
	TCG→GGG	Ser→Pro	1	0.6
533	CTG→CCG	Ser→Pro	6	3.7
509-511	deletion	-	1	0.6
513-514	insertion	TTC (Phe)	4	2.5

表一、台灣地區抗藥性菌株 *rpoB* 基因上多變區域發生突變之位置以及頻率

此方法可針對這段81 bp長度之序列，參考上表發生突變的序列位置，設計具特異性的探針，以分析檢體中此段序列組成以及有否突變、插入、刪除的發生，可快速偵測檢體中是否有抗藥性菌株的存在。其他如異菸鹼醯（isoniazid，簡稱INH）、鏈黴素（streptomycin，簡稱SM）、孟表多（ethambutol，簡稱EMB）的抗藥性基因，亦可以相同方式進行設計，透過探針質量的適當安排，可在同一反應中同時偵測多種抗藥性基因，可在第一時間掌握病人感染菌株的特性，對疾病防治與醫療策略的採用具有高度的價值。

3. 特異性聚合酶鍊鎖反應核酸引子與特異性質譜儀探針設計

因聚合酶鍊鎖反應及探針單一核苷酸延伸反應為一系列放大原始訊號反應，所以此設計步驟必須兼顧引子與探針之專一性與敏感性。在確定結核桿菌具特異性的基因或序列片段後，比對完各菌種核酸序列，將一般分枝桿菌與結核菌核酸序列具高相似

性出設計聚合酶鍊鎖反應之引子，並分別針對結核桿菌與一般的分枝桿菌設計特異性探針。探針的設計除需考量單一探針的質量大小外，亦須考慮在同一反應中各探針質量差異是否適當，使各探針在頻譜訊號上不致相互干擾；在探針質量的適當安排下，可在同一反應中同時偵測多種病原菌。除此之外，在進行單一核苷酸延展反應後，可同時讀出正常基因型與突變基因型在頻譜的訊號，因而可以分析檢體是否帶有具抗藥性（甚至多重抗藥性）之病原菌。

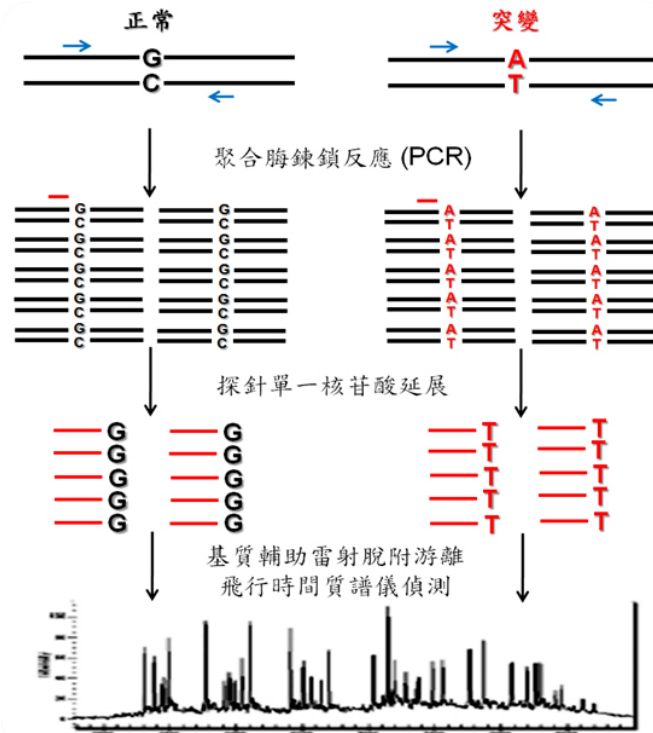
使用 SEQUENOM 一系列套組軟體，此套組軟體可設計：(1) 聚合酶鍊鎖反應之引子對，根據鹼基間的親和性預測，使用程式運算找出最適當核酸引子設計位置。此對引子放大 DNA 序列約為 100 個核酸對。為增加熱循環放大之親和性及避免干擾最終質譜測定，在引子前端部位加上 10 個核苷酸之標籤序列。(2) 單核苷酸延伸之探針，根據鹼基間親和性、專一性以及延伸探針核酸荷質比之預測，將結核菌鑑定探針及抗藥基因群探針依質譜最大容納限度置於同一反應。此運算步驟可避免設計出核酸探針內、核酸探針間會干擾單核苷酸探針延伸反應之序列。在探針設計與組合上，本計畫已建立一些原則可以依循，例如：一、每條探針反應前與反應後的訊號彼此至少相距 30Da，二、單一反應管中多探針組合以約二十條最為恰當，三、探針的組合最好都位於核酸的同一股等。

目標二、建立核酸質譜儀偵測系統，並量測其靈敏度與最小偵測核酸拷貝數

研究方法：

1. 核酸質譜儀操作原理

此核酸質譜儀是利用固態基質（即固態進樣之質譜儀）吸收生化反應產物並結晶後，產物分子經雷射激發電離化，因荷質比不同，在真空管柱內飛行時間不一樣，而產生質譜訊號位置及強度不同。即會因探針專一性黏合特定序列後，依其檢體核酸序列，延伸一個不特定雙去氧核苷酸，因此延伸之雙去氧核苷酸之質量不同，而造成不同質譜位置。若檢體無此特定序列，此專一探針也會於質譜特定位置出現該訊號。因此根據質譜訊號位置及強度，我們可得知檢體核酸中是否具有特定核酸序列，進而判定此檢體中是否有結核菌或供臨床用藥之參考。如圖二所示(圖二)，鑑定原理簡言之：假定標的物（如：結核分枝桿菌）特異性核酸為 A，其他標的物為 G。經由特異引子（藍色箭號）進行聚合酶鍊鎖反應，將前後適當片段放大後，繼而利用特異性探針（紅色短線）進行單一核苷酸延展。因單一核苷酸延展所嵌入之核苷酸差異，使得最終產物質量不同而可被質譜儀辨識分別。



圖二、核酸質譜儀鑑定原理圖，抽取出來的檢體 DNA 進行聚合酶鍊鎖反應放大特定片段。再經 SAP（蝦鹼性磷酸酶）去除殘留反應物。再進行單核苷酸探針延伸反應。最後將產物以雷射激發，根據質譜不同位置訊號之有無及強度，可分辨檢體來源有無結核分枝桿菌。

2. 結核分枝桿菌偵測聚合酶鍊鎖反應

抽出檢體核酸後，進行偵測前生化反應處理，放大偵測訊號。聚合酶鍊鎖反應：放大一般分枝桿菌與結核桿菌之共有類似片段，約此片段約 100 個核苷酸序列配對，此反應放於熱循環機上，使用適合溫度與時間，進行 45 循環之放大反應。使用之聚合酶為具校正功能之熱活化聚合酶。接著，將部份聚合酶鍊鎖反應的產物進行 1.5~2% 瓊脂膠體電泳，確認聚合酶鍊鎖反應過程為專一且具有足夠產物可進行下一步反應。此步驟目的為確認引子的特異性與敏感度，用以降低偽陽性及偽陰性檢出率。若測試結果不符要求，則須重新設計引子。

3. 特異性探針單一核苷酸延伸反應

進行單一核苷酸延伸反應前，須將聚合酶鍊鎖反應產物進行蝦鹼性磷酸酶處理，中和殘餘反應物，使不因聚合酶鍊鎖反應中殘餘之游離去氧核糖核酸干擾後續單一核苷酸延伸反應。進行單一核苷酸延伸反應之前尚需進行反應測試，將已設計好的探針進行校正與測試。因質量較大之探針的頻譜訊號較質量小者微弱，故須提高分子量之探針含量，以平衡訊號強度；完成校正後，即可進行標準品（帶有結核桿菌之檢體或質體）測試，此步驟目的為確認探針的特異性與敏感度，並測試反應條件，以降低偽陽性及偽陰性檢出率。若測試結果不符要求，則須重新設計探針。單一核苷酸探針延伸反應：將處理過之放大片段加入探針與雙去氧核苷酸，進行單一核苷酸探針延伸實驗，進行 200 循環之延伸反應，再次放大原始微量訊號。探針序列則與該病原菌具特異性之基因序列吻合，僅具有該段特異基因序列之檢體才會與探針黏合，並進而延伸一個核苷酸；而不具該特異性的序列不會與探針結合，亦即不會進行單一核苷酸探針延伸反應。

4. 核酸質譜儀上機與結果判讀

因鹽類會干擾核酸質譜儀進行產物分析，以上生化反應後之產物加入離子交換樹脂，去除生化反應中的鹽類。經去除鹽類後的產物，以自動分注機將微量產物置於晶片使產物結晶，置入高感度核酸質譜儀，以雷射光激發產物並收集訊號。結核桿菌因專一探針會與其核酸片段結合，進行探針延伸而在特定質量處出現訊號；相反的，一般分枝桿菌不會結合上特定探針，所以儘有未延申探針之訊號。

5. 建立核酸質譜儀特異性偵測平台

為了確認日後平台的特異性與準確度，以避免環境中菌落影響測試品質，造成偽陽性，因此我們由財團法人食品工業研究所購入近二十種標準菌株，包括結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌與非分枝桿菌等，如下：*M. africanum*, *M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. intracellulare*, *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. simiase*, *M. marium*, *M. smegmatis*, *M. triviale*, *M. gordonae*, *M. phliei*, *M. chlorophenicum*, *M. avium*, *M. sphagni*, *M. vanbaalenii*, *M. vaccae*, *M. neoaurum*, *M. diernhoferi*，並初步以結核分枝桿菌特異性探針測試其特異性。

5. 利用序列稀釋偵測平台靈敏度

質譜儀具備高敏感度特性，可偵測微量待測物。為了解所設計系統之敏感度，將利用上述已購得之標準菌株，抽取核酸後以滅菌水進行序列稀釋，至少須至十拷貝數以下，並以核酸質譜儀進行偵測，最後結果可試圖將偵測的陽性訊號與稀釋理論拷貝數進行線性回歸分析，觀察其定量可行性。透過偵測敏感度試驗，可知此系統具偵測檢體中微量病原菌之能力，除了痰液、腦脊髓液、血清以及臨床組織檢體外，亦可使用非侵入性檢體，如：呼氣冷凝液、尿液等，在蒐集檢體後，萃取檢體中的去氧核糖核酸以進行後續分析。

目標三、蒐集臨床結核病人檢體進行質譜儀鑑定，並比較與傳統方式鑑定之敏感度、特異性與所需時間

研究方法：

1. 臨床病人檢體蒐集

收集臨床疑似病例之痰液、血清、痰液、腦脊髓液、臨床組織檢體或尿液等。本計劃預計共以過去五年台大醫院檢驗醫學部所累積之結核病例檢體至少約 250 例，進行驗證測試。

2. 結核桿菌偵測及其抗藥性基因突變檢測

為確認本計劃所建立之平台對於臨床檢體檢測的可行性。由台大檢驗醫學部收集已知 2004 至 2008 年臨床檢體，包含抗酸性染色陽性與培養陽性；抗酸性染色陰性與培養陽性；抗酸性染色陰性與培養陰性等檢體約 15 例，配合其臨床診斷，將核酸抽出後，利用高感度核酸質譜儀進行結核桿菌及其抗藥基因之檢測。比對傳統檢驗方式，用以驗證此平台之可信度，確定此方式可應用於臨床診斷。初步以病人檢體中培養出結核分枝桿菌及非結核分枝桿菌進行特異性測試。

3. 測試族群 (testing cohort) 結核桿菌偵測

若 training cohort 顯示此快速鑑定是可行的，將 220 例之臨床病例之檢體，以雙盲方式進行結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌和結核分枝桿菌抗藥基因檢測。

4. 病歷確認並比較方法準確性

將質譜儀之結果比對傳統黃金標準 (Gold Standard) 檢測方式，對於結核分枝桿菌與非結核分枝桿菌鑑定則比對標準檢體培養判定方式；對於抗藥菌株的鑑定則比對臨床抗藥最低抑制濃度 (MIC, minimal inhibit concentration) 之判定方式。以期經質譜儀高敏感度分析後，可以在早於檢體培養確判結核分枝桿菌前便可以檢測出，並分型抗藥菌株。

目標四、建立病人呼出氣冷凝液檢體結核分枝桿菌檢測平台

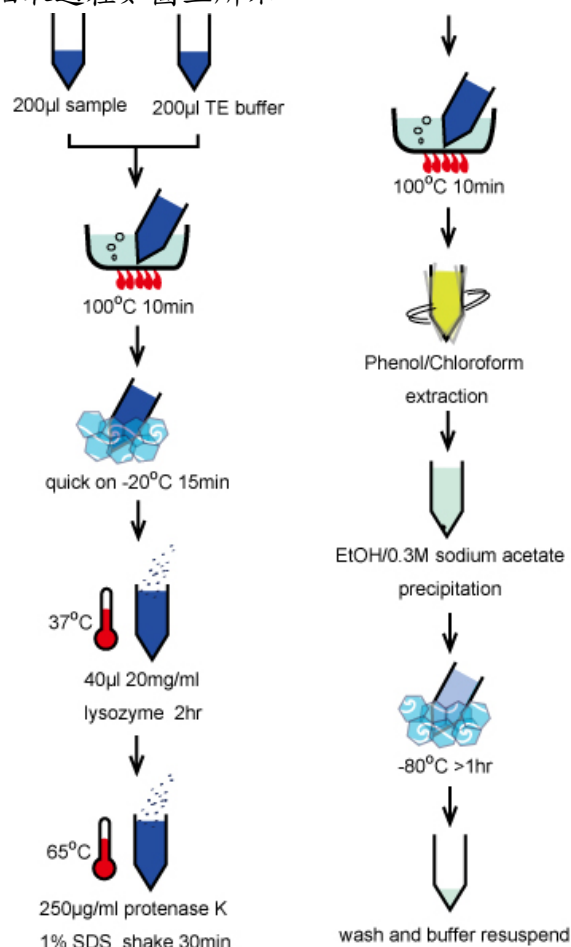
研究方法：

1. R 型呼出液冷凝管操作與檢體蒐集

使用 R 型呼出液冷凝管 (Respiratory Research, TX, USA; <http://www.rtube.com>) 收集病人十分鐘呼出氣體，呼出氣體中可能含病原菌體或病原體之核酸。將冷凝液同時進行傳統標準臨床檢驗流程以及高感度核酸質譜儀操作。本計劃執行期間，預計針對回診之結核病患收集其呼出冷凝液共 15-20 例。

2. 檢體核酸萃取

呼出冷凝液核酸萃取方式參考文獻³²並加以修改，將病人呼出冷凝液經溶菌酶及蛋白酶去除細胞外膜後，使用樹脂結合管柱，將菌的核酸結合純化並濃縮供後續生化反應及質譜儀之用。抽取過程如圖三所示。



圖三、病人呼出冷凝液核酸抽取示意圖。

3.核酸質譜儀檢測並比對檢體臨床資料

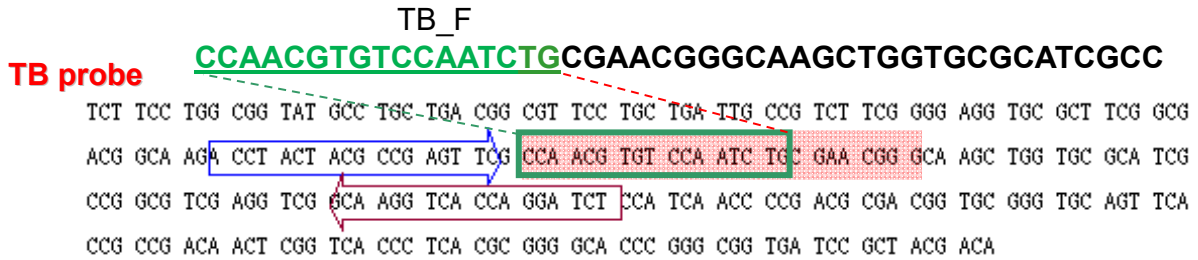
核酸質譜儀檢測之結果須比對歷年臨床痰塗片抗酸性染色及細菌培養鑑定結果，以期經質譜儀高敏感度分析後，可以於呼出冷凝液檢體中檢測出結核分枝桿菌。

肆、結果

針對本計畫預期達成之目標，分項詳述其結果：

一、結核分枝桿菌核酸序列排列比對分析並進行專一性探針設計：

所有結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌、檢體來源有可能的污染菌以及結核分枝桿菌抗藥基因之核酸序列皆從科學文獻及線上核酸資料庫蒐集而來，經過核酸序列排列比對、分析，找出其具特異性及保留性之核酸序列，設計出具相當專一性及敏感性的引子及探針。



圖四、結核分枝桿菌專一性探針設計區域圖示

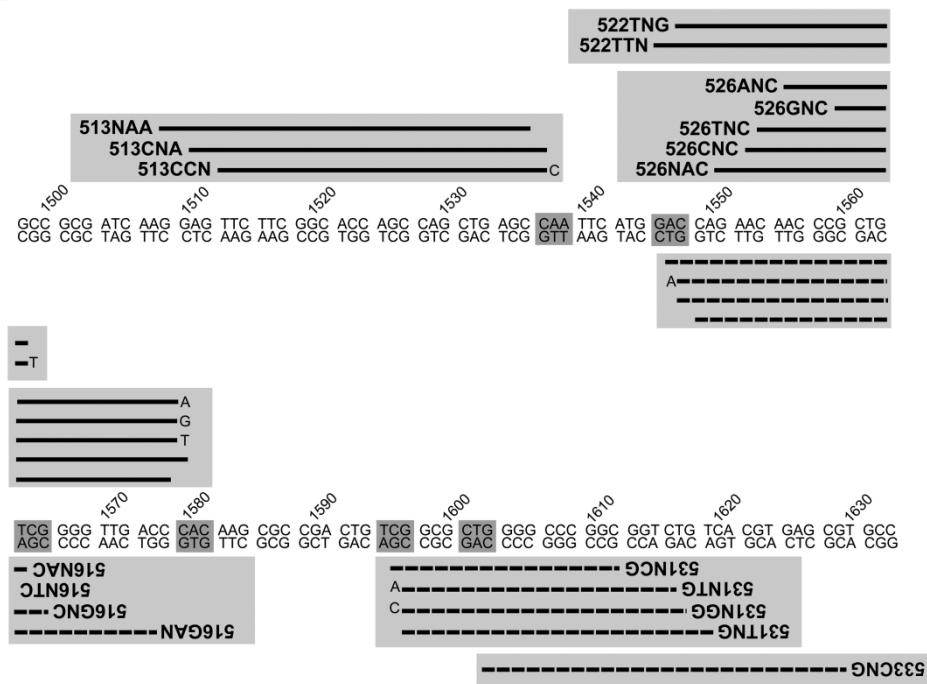
以結核分枝桿菌之上列序列（圖四）為參考序列，其中淡紅色方塊區域為結核分枝桿菌特有之專一性序列，得以與一般分枝桿菌做區分，故在此區域設計專一偵測結核分枝桿菌之探針（綠色方框部分之序列），並以兩方向之聚合酶連鎖反應之引子（上圖兩箭號區域之序列）以放大擴增此區域，以進行後續單一核苷酸延伸反應。

二、抗藥基因突變點蒐集比對與特異性質譜儀探針設計：

由臨床文獻及現有病歷檢體，找出發生率較高的抗藥基因群，比對出各抗藥基因序列內突變點。設計針對各抗藥基因具特異及專一引子與探針，並結合結核菌鑑定之專一引子及探針，期望可同時完成結核菌株之鑑定與臨床用藥之指引。

其中，以瑞比新（rifampin，簡稱 RMP）抗藥性生成為例，結核菌會對 RMP 藥物有抗藥性，主要是由於核糖核酸聚合酶（RNA polymerase） β -subunit 的 *rpoB* 基因中一段 81 個鹼基對區域去氧核糖核酸（DNA）發生突變所造成。多重抗藥性菌株之發展與 *rpoB* 基因發生突變有關，通常對 RMP 具抗藥性之菌株，約有 90% 同時對 INH 具有抗藥性，因此，RMP 抗藥性可以當成具有多重抗藥性與否的指標。

此方法可針對 *rpoB* 基因此段 81-bp 長度之序列，參考下圖發生突變的序列位置，設計具特異性的探針，以分析檢體中此段序列的組成以及有否突變、插入、刪除的發生，可快速偵測檢體中是否有抗藥性菌株的存在。圖五即為各突變位點在此 81-bp 序列上之分布位置示意，序列上方為探針位置，編號探針編號：



圖五、*rpoB* 基因在此 81-bp 序列上各突變位點及探針分布位置之示意

因為各發生突變之位點距離較近，故實際設計時，將此六個突變位置分兩組，設計成兩組方向不同之專一性探針，因此將正股之探針組與反股之探針組置於兩反應管中進行。在結果判讀上，可以下列表二判讀檢體為 *rpoB* 基因野生型 (wild-type) 或突變型，並可知是位在 81-bp 序列區域中哪一位置上發生之突變。

表二、*rpoB* 基因突變質譜儀判讀表

		rpoB Mutation Specific Probe																		
		513	513	513	516	516	516	516	522	522	526	526	526	526	526	531	531	531	531	533
		NAA	CNA	CCN	NAC	NTC	GNC	GAN	TNG	TTN	NAC	CNC	TNC	GNC	ANC	NCG	NTG	NGG	TNG	CNG
Mutation Codon																				
513 WT CAA	C	A	NA																	
CCA	C	C	A																	
AAA	A	NA	NA																	
CCG	C	C	G																	
516 WT GAC				G	NA	A	C													
TAC				T	NA	A	C													
GTC				NA	G	T	C													
GGC				NA	NA	G	C													
GCC				NA	NA	C	C													
TTC				NA	T	T	C													
522 WT TCG								C	NA											
TTG								T	G											
TTC								T	C											
526 WT CAC										C	A	NA	NA	NA						
TAC										T	NA	A	NA	NA						
GAC										G	NA	NA	A	NA						
AAC										A	NA	NA	NA	A						
CTC										C	T	NA	NA	NA						
CGC										C	G	NA	NA	NA						
TGC										T	NA	G	NA	NA						
ACC										A	NA	NA	NA	C						
GGC										G	NA	NA	G	NA						
531 WT TCG															T	NA	NA	C		
TTG															NA	T	NA	T		
TGG															NA	NA	T	G		
CAG															NA	NA	NA	A		
GTG															NA	G	NA	C		
GGG															NA	NA	G	G		
533 WT CTG																				T
CCG																				C

設計時需注意各條探針未延展以及每一延展核苷酸之質量數相差需在 30 Da 以上，

質量數相距太近可能造成質譜儀結果波峰重疊，而不利於判讀質譜波峰結果。

我們也在本計畫中優先挑選數種與第一線或第二線用藥抗性有關的基因突變，如下所列(表三、表四)，這樣可以有效鑑定多重抗藥結核分枝桿菌及廣泛抗藥結核分枝桿菌，增加檢疫強度。

表三、結核分枝桿菌抗藥基因突變列表一

Anti-TB drug	Gene target	Mutation related to drug resistance		probe ID
		Codon	Nucleotide alteration	
Isoniazid (INH)	katG	315	AGC-->GGC	katG315_1_AG
	katG	315	AGC-->AGG	katG315_3_CG
Pyrazinamide (PZA)	pncA	57	CAC-->GAC	pncA169_CG
Ethambutol (EMB)	embB	306	ATG-->GTG	embB306_1_AGC
	embB	306	ATG-->CTG	embB306_1_AGC
Streptomycin (SM)	rpsL	88	AAG-->AGG	rpsL88_AG
Rifampin (RIF)	rpoB	513	CAA-->AAA	rpoB513_1_CA
	rpoB	513	CAA-->CCA	rpoB513_2_AC
	rpoB	513	CAA-->CAG	rpoB513_3_AG
	rpoB	526	CAC-->TAC	rpoB526_1_CTGA
	rpoB	526	CAC-->GAC	rpoB526_1_CTGA
	rpoB	526	CAC-->AAC	rpoB526_1_CTGA
	rpoB	526	CAC-->CTC	rpoB526_2C_ATG
	rpoB	526	CAC-->CGC	rpoB526_2C_ATG
	rpoB	526	CAC-->TGC	rpoB526_2T_AG
	rpoB	526	CAC-->GGC	rpoB526_2G_AG
	rpoB	526	CAC-->ACC	rpoB526_2A_AG
	rpoB	522	TCG-->TTG	rpoB522_2_C TG
	rpoB	522	TCG-->TGG	rpoB522_2_C TG
rpoB	522	TCG-->TCC	rpoB522_3_GC	

表四、結核分枝桿菌抗藥基因突變列表二

Anti-TB drug	Gene target	Mutation related to drug resistance		probe ID
		Codon	Nucleotide alteration	
Rifampin (RIF)	rpoB	516	GAC-->TAC	rpoB516_1A_GT
			GAC-->TTC	rpoB516_1T_GT
			GAC-->GTC	rpoB516_2AGTC
			GAC-->GGC	rpoB516_2AGTC

			GAC-->GCC	rpoB516_2AGTC
			GAC-->GAG	rpoB516_3_CG
		531	TCG-->CCG	rpoB531_1C_TC
			TCG-->GTG	rpoB531_1T_TG
			TCG-->GGG	rpoB531_1G_TG
			TCG-->TTG	rpoB531_2_CTGA
			TCG-->TGG	rpoB531_2_CTGA
			TCG-->TAG	rpoB531_2_CTGA
		533	CTG-->CCG	rpoB533_2_TC
Isoniazid (INH) /Ethionamide (ETH)	inhA	-	C-->T (-15)	inhA-15_CT
Ethambutol (EMB)	embB	406	GGC--->GAC	embB406_GA
Streptomycin (SM)	rpsL	43	AAG-->AGG	rpsL43_AG
Isoniazid (INH)	katG	315	AGC-->ACC	katG315_2_GCA
		315	AGC-->AAC	katG315_2_GCA
		316	GGC-->AGC	katG316_GA
Ethambutol (EMB)	embB	306	ATG-->ATC	embB306_3_GCA
			ATG-->ATA	embB306_3_GCA
		497	CAG-->CGG	embB497_AG

本計畫已完成相關的引子與探針設計，包括基因突變偵測探針序列，分別將於兩個反應管中進行(表五、表六)。

表五、抗藥基因突變聚合酶鍊鎖反應引子表

WELL	SNP_ID	PCR Forward Primer Sequence	PCR Reverse Primer Sequence
W1	katG315_1_AG	ACGTTGGATGTGGAAGAGCTCGTATGGCAC	ACGTTGGATGCTGTTGTCCCATTTTCGTCGG
W1	KatG315_3_CG	ACGTTGGATGTGGAAGAGCTCGTATGGCAC	ACGTTGGATGCTGTTGTCCCATTTTCGTCGG
W1	pncA169_CG	ACGTTGGATGACGAGGAATAGTCCGGTGTG	ACGTTGGATGCAACCAAGGACTTCCACATC
W1	embB306_1_AGC	ACGTTGGATGAATTCGTCGGACGACGGCTA	ACGTTGGATGACCAGCGAAATAGTTGGAC
W1	rpsL88_AG	ACGTTGGATGAACCTGCAGGAGCACTCGAT	ACGTTGGATGGATGATCTTGTAGCGCACAC
W1	513-1_CA	ACGTTGGATGCAGACGTTGATCAACATCCG	ACGTTGGATGAACCCCGACAGCGGGTTTTT
W1	513-2_AC	ACGTTGGATGCAGACGTTGATCAACATCCG	ACGTTGGATGAACCCCGACAGCGGGTTTTT
W1	513-3_AG	ACGTTGGATGCAGACGTTGATCAACATCCG	ACGTTGGATGAACCCCGACAGCGGGTTTTT
W1	526-1_CTGA	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA	ACGTTGGATGTGACAGACCGCCGGTTTTT
W1	526-2C_ATG	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA	ACGTTGGATGTGACAGACCGCCGGTTTTT
W1	526-2T_AG	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA	ACGTTGGATGTGACAGACCGCCGGTTTTT
W1	526-2G_AG	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA	ACGTTGGATGTGACAGACCGCCGGTTTTT

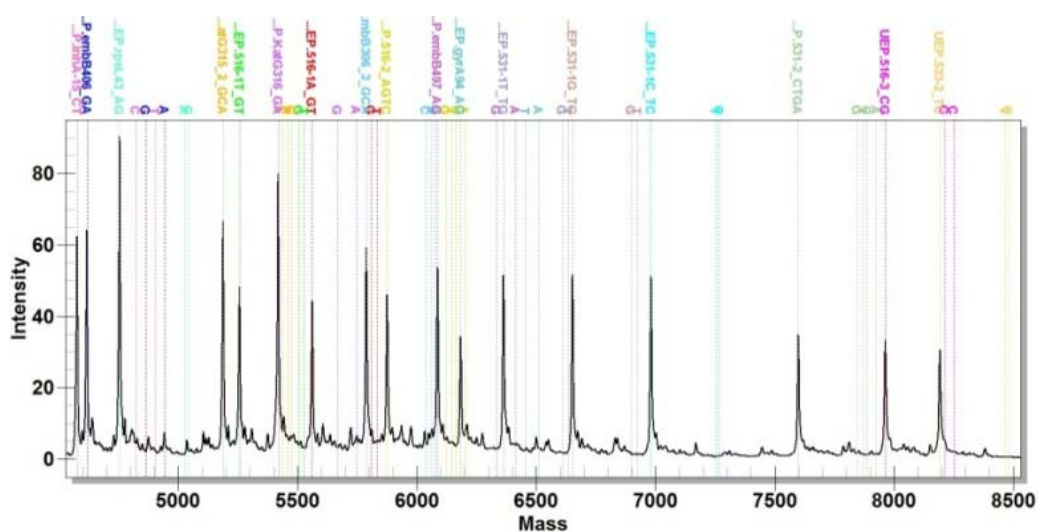
W1	526-2A_AC	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA	ACGTTGGATGTGACAGACCGCCGGTTTTT
W1	522-2_CTG	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA	ACGTTGGATGACGCTCACGTGACAGACCG
W1	522-3_GC	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA	ACGTTGGATGACGCTCACGTGACAGACCG
W2	516-1A_GT	ACGTTGGATGAGTCGGCGCTTGTGGGTCAA	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA
W2	516-1T_GT	ACGTTGGATGAGTCGGCGCTTGTGGGTCAA	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA
W2	516-2_AGTC	ACGTTGGATGAGTCGGCGCTTGTGGGTCAA	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA
W2	516-3_CG	ACGTTGGATGAGTCGGCGCTTGTGGGTCAA	ACGTTGGATGGATCAAGGAGTCTTCGGCA
W2	531-1C_TC	ACGTTGGATGACGCTCACGTGACAGACCG	ACGTTGGATGCAGCTGAGCCAATTCATGGA
W2	531-1T_TG	ACGTTGGATGACGCTCACGTGACAGACCG	ACGTTGGATGCAGCTGAGCCAATTCATGGA
W2	531-1G_TG	ACGTTGGATGACGCTCACGTGACAGACCG	ACGTTGGATGCAGCTGAGCCAATTCATGGA
W2	531-2_CTGA	ACGTTGGATGACGCTCACGTGACAGACCG	ACGTTGGATGCCAGCTGAGCCAATTCATG
W2	533-2_TC	ACGTTGGATGACGCTCACGTGACAGACCG	ACGTTGGATGCAGCTGAGCCAATTCATGGA
W2	inhA-15_CT	ACGTTGGATGTCGACGGCGCATGGGTAT	ACGTTGGATGTAACCAGAATCCGTTTGCCG
W2	embB406_GA	ACGTTGGATGTCGATCAGCACATAGGTGAC	ACGTTGGATGCGTGGATGCCGTTCAACAAC
W2	rpsL43_AG	ACGTTGGATGTATGCACCCGCGTGTACACC	ACGTTGGATGACCTGACTCGTCAACTTCAC
W2	katG315_2_GCA	ACGTTGGATGTGGAAGAGCTCGTATGGCAC	ACGTTGGATGCTGTTGTCCCATTCGTCGG
W2	KatG316_GA	ACGTTGGATGCTGTTGTCCCATTCGTCGG	ACGTTGGATGTGGAAGAGCTCGTATGGCAC
W2	embB306_3_GCA	ACGTTGGATGAATTCGTCGGACGACGGCTA	ACGTTGGATGACCAGCGGAAATAGTTGGAC
W2	embB497_AG	ACGTTGGATGGATTTTGGCGGAACCCTG	ACGTTGGATGTCATCCTGACCGTGGTGTTCT

表六、抗藥基因突變聚合酶鍊鎖反應探針表

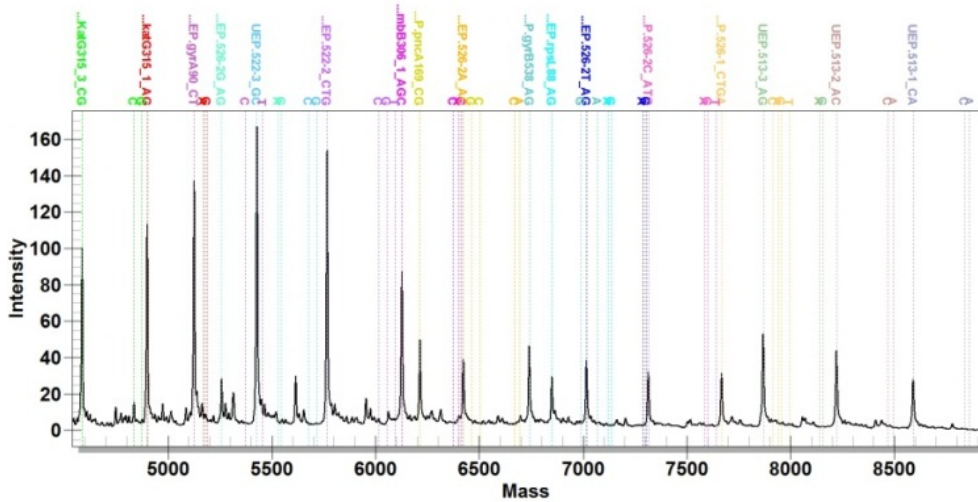
WELL	SNP_ID	Probe Sequence	Mass
W1	katG315_1_AG	gAAGGACGCGATCACC	4900.2
W1	KatG315_3_CG	GGACGCGATCACCAG	4587
W1	pncA169_CG	GTCCGGTGTGCCGAGAAGT	6214
W1	embB306_1_AGC	aaGACGGCTACATCCTGGGC	6127
W1	rpsL88_AG	CTGGTGC GCGCGCGCCGGGTGA	6849.4
W1	513-1_CA	GGAGTCTTCGGCACCAGCCAGCTGAGC	8590.6
W1	513-2_AC	AGTTCCTTCGGCACCAGCCAGCTGAGCC	8221.3
W1	513-3_AG	TTCTTCGGCACCAGCCAGCTGAGCCC	7868.1
W1	526-1_CTGA	GAACAACCCGCTGTCCGGGTTGACC	7668
W1	526-2C_ATG	ACAACCCGCTGTCCGGGTTGACCC	7314.7
W1	526-2T_AG	CAACCCGCTGTCCGGGTTGACCT	7016.5
W1	526-2G_AG	GCTGTCCGGGTTGACCG	5258.4
W1	526-2A_AC	ACCCGCTGTCCGGGTTGACCA	6423.2
W1	522-2_CTG	GACCAGAACAACCCGCTGT	5766.8
W1	522-3_GC	CCAGAACAACCCGCTGTT	5428.5
W2	516-1A_GT	ACAGCGGGTGTCTGGT	5561.6
W2	516-1T_GT	CAGCGGGTGTCTGGA	5257.4
W2	516-2_AGTC	CGACAGCGGGTGTCTGG	5875.8

W2	516-3_CG	GTCAACCCCGACAGCGGGTTGTTCTG	7963.2
W2	531-1C_TC	CAGACCGCCGGGCCCCAGCGCCG	6981.5
W2	531-1T_TG	GACCGCCGGGCCCCAGCGCCA	6363.1
W2	531-1G_TG	AGACCGCCGGGCCCCAGCGCCC	6652.3
W2	531-2_CTGA	TGACAGACCGCCGGGCCCCAGCGCC	7598.9
W2	533-2_TC	CGCTCACGTGACAGACCGCCGGGCCCC	8192.3
W2	inhA-15_CT	TATGGGCCACTGACA	4577
W2	embB406_GA	CCGAGCGCGATGATG	4618
W2	rpsL43_AG	TACACCACCACTCCGA	4755.1
W2	katG315_2_GCA	TAAGGACGCGATCACCA	5188.4
W2	KatG316_GA	TCCATACGACCTCGATGC	5419.5
W2	embB306_3_GCA	ACGGCTACATCCTGGGCAT	5788.8
W2	embB497_AG	CCAACACCGTTGACAGGGTC	6087

在設計好探針後，於正式進行測試前，尚需先調整、校正各探針之反應濃度，使其在同一反應中各探針的強度相似，目的為可以校正本系統 MALDI-TOF 技術中較大質量數之探針強度較弱的問題。其校正結果，第一組(圖六)探針以及第二組(圖七)探針的校正結果質譜強度如下。



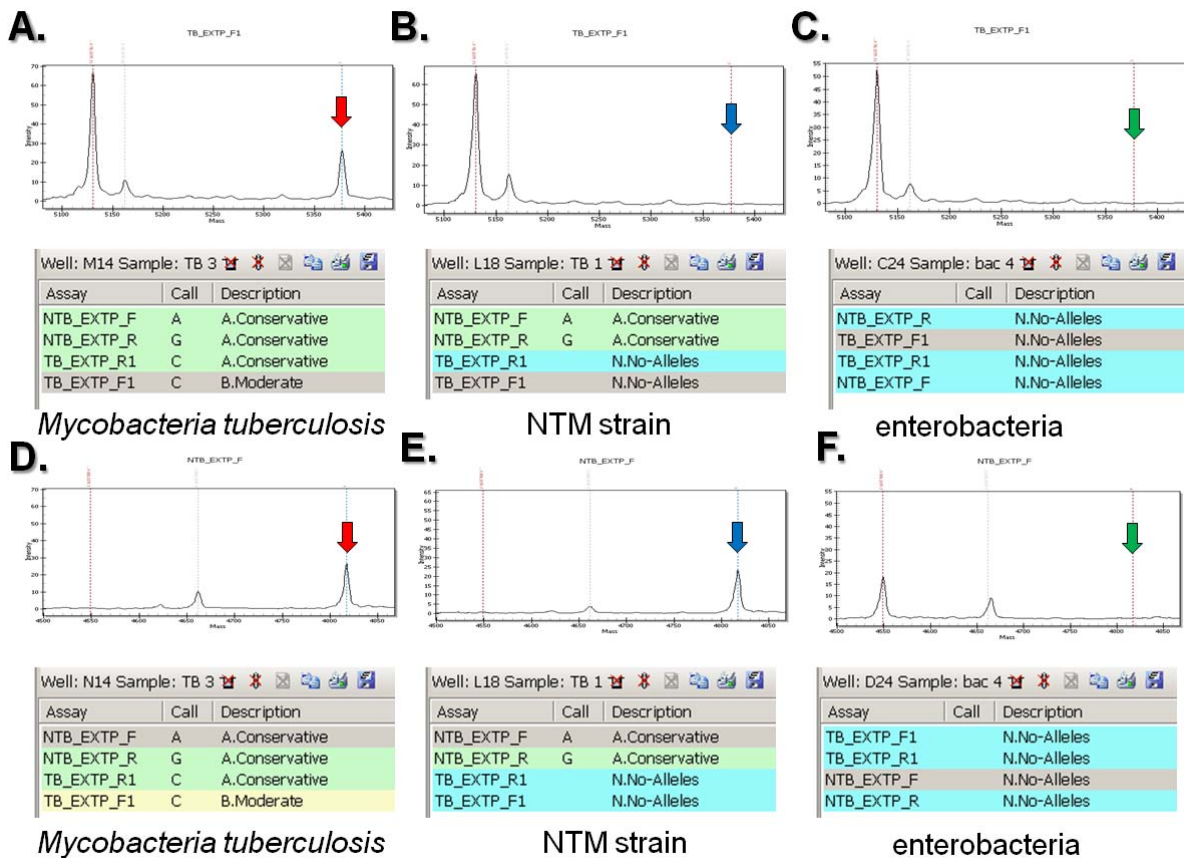
圖六、第一組探針質譜儀校正頻譜。



圖七、第二組探針質譜儀校正頻譜。

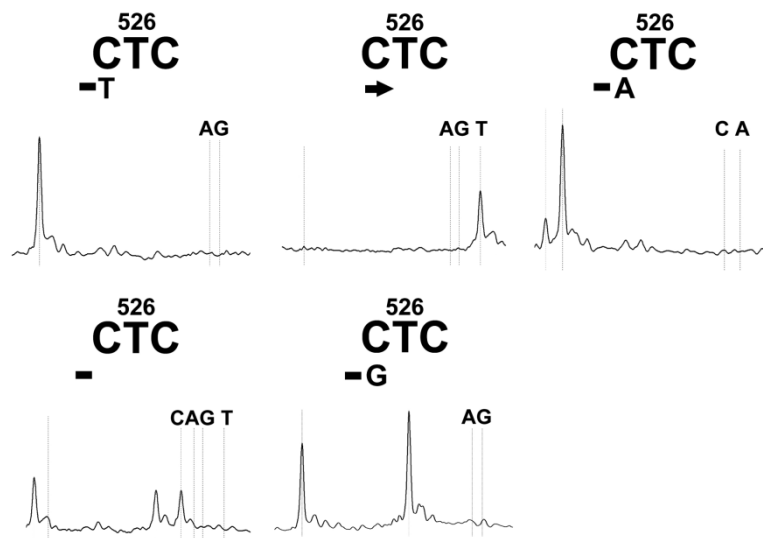
三、建立核酸質譜儀偵測系統，測量靈敏度與最小偵測核酸拷貝數

在設計結核桿菌專一性偵測探針後，首要建立平台特異性測試，以購得之各種表準菌株進行測試，核酸質譜儀可以精準鑑定結核分枝桿菌，且不為非結核分枝桿菌所干擾（圖八）。



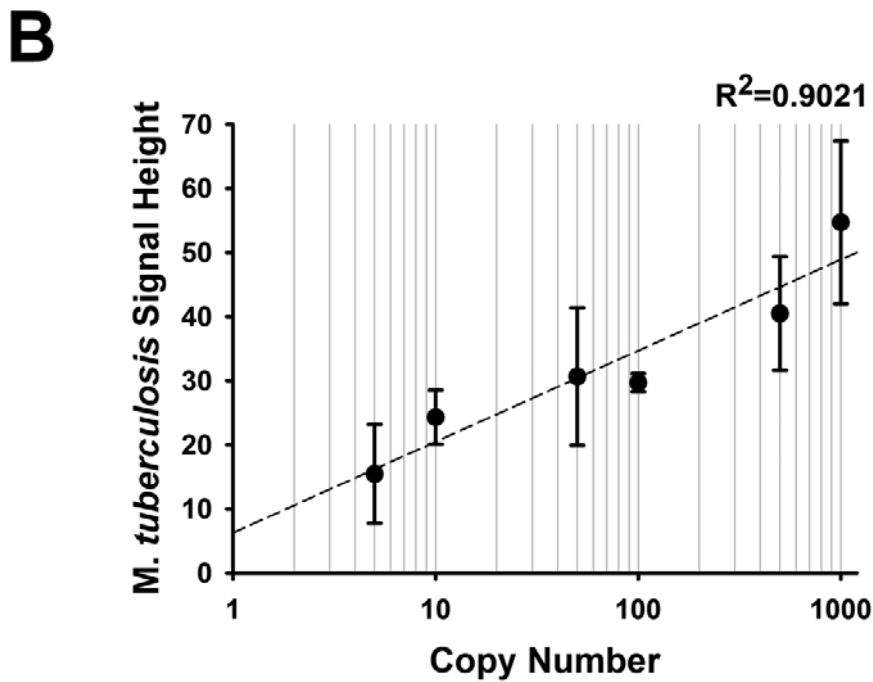
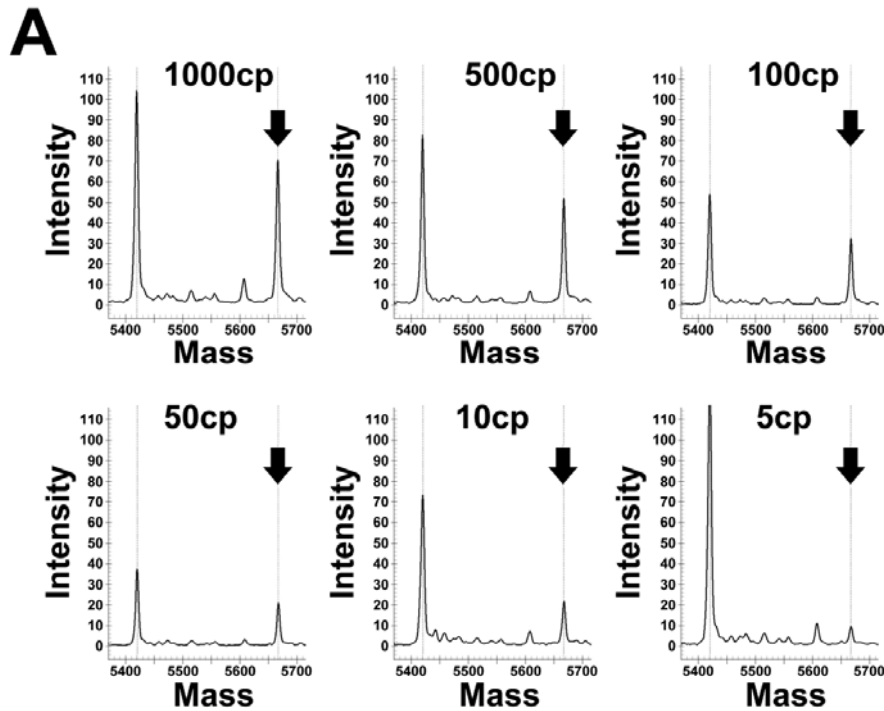
圖八、結核菌株、一般分枝桿菌及腸道菌株之質譜之分析與判讀:上圖 A-F 分別為三種不同檢體來源之質譜結果；A 與 D、B 與 E、C 與 F 為同一檢體來源、同一反應內不同偵測探針之結果。A-C 為針對結核菌單核苷酸延伸探針之質譜，A 為結核菌株故在紅色箭頭處有一突起訊號，B、C 分別為一般結核分枝桿菌、腸道菌，故使用此探針在箭頭處無訊號，而是儘有未延伸探針之訊號。而下圖 D-F 為針對一般廣泛分枝桿菌之探針，D、E 皆屬一般廣泛分枝桿菌之一部份，故在箭頭下有一突起訊號，而 F 為腸道菌，不屬分枝桿菌，故在箭頭位置亦無訊號。

此外，以一株臨床取得已知 *rpoB* 基因突變之培養菌株進行測試，在雙盲的情況下，核酸質譜儀可以偵測出第 526 個氨基酸突變，這樣的結果可以用傳統核酸直接定序法驗證突變的存在(圖九)。



圖九、受結核分枝桿菌感染、*rpoB* 基因野生型之病人之結果範例。其中該病人第 526 個氨基酸由 CTC 改變為 CAC，其為代表具 TB 突變特有序列，故此病人為 TB 陽性病人；在 *rpoB* 基因上第 526 個氨基酸有突變。

在測試靈敏度方面，我們將菌株 *M. tuberculosis H37Ra* 之 DNA 以水稀釋為 1000 copies/ μ l、500 copies/ μ l、100 copies/ μ l、50 copies/ μ l、10 copies/ μ l、5 copies/ μ l 等稀釋濃度以進行測試，結果可見如圖十(圖十 A)，且其拷貝數與訊號強度有極佳之線性，證明核酸質譜儀可以定量(圖十 B)。



圖十、*M. tuberculosis H37Ra* DNA 靈敏度測試結果。A, 經由序列稀釋至十個拷貝數以下的結核分枝桿菌，依就可被核酸質譜儀偵測。B, 將序列稀釋的拷貝數與質譜儀偵測的陽性訊號強度進行線性回歸分析，可得極佳之線性相關。

四、蒐集臨床結核病人檢體進行質譜儀鑑定

另一部分的重點，即為蒐集臨床病人檢體與萃取其 DNA，並以此方法測試。為確認本計劃所建立之平台對於臨床檢體檢測的可行性。由台大檢驗醫學部收集已知 2004~2008 年的臨床檢體，包含抗酸性染色陽性與培養陽性；抗酸性染色陰性與培養陽性；抗酸性染色陰性與培養陰性等檢體，配合其臨床診斷，將核酸抽出後，利用高感度核酸質譜儀進行結核桿菌及其抗藥基因之檢測。比對傳統檢驗方式，用以驗證此平台之

可信度，確定此方式可應用於臨床診斷。初步以病人檢體中培養出結核分枝桿菌及非結核分枝桿菌的一般分枝桿菌進行特異性測試，因篇幅關係，於表七簡列出以首批 15 例病人作為前測試的結果：

表七、編號 1~15 病人檢體培養菌株結果 (acid fast stain、culture、mass)

NO.	acid fast stain	culture	Mtb	Myco	Mass Mtb	Mass Myco	Mass rpoB
1	+	+	+		+	+	WT
2	+	+	+		-	+	-
3	+	+	+		+	+	WT
4	-	+	+		+	+	WT
5	-	+	+		+	+	WT
6	-	+	+		+	+	WT
7	+	+	-	+	-	+	-
8	+	+	-	+	-	+	-
9	+	+	-	+	-	+	-
10	-	+	-	+	-	+	-
11	-	+	-	+	-	+	-
12	-	+	-	+	-	+	-
13	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-

#1~3：acid fast stain positive、culture positive 之結核分枝桿菌病人

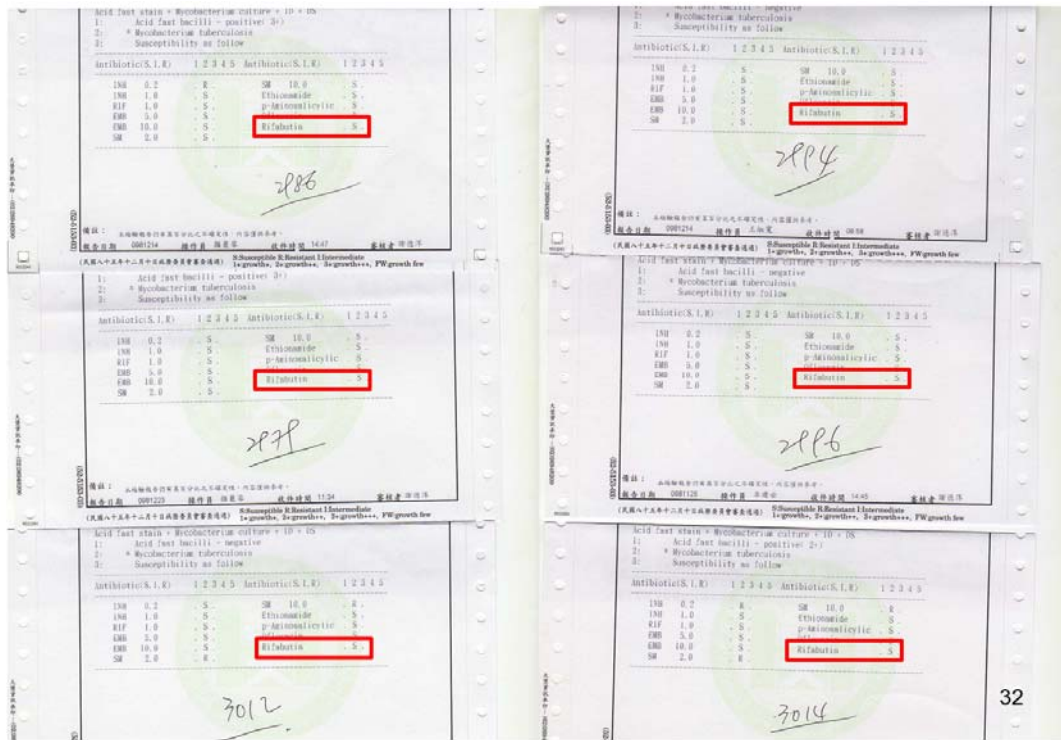
#4~6：acid fast stain negative、culture positive 之結核分枝桿菌病人

#7~9：acid fast stain positive、culture positive 之其他分枝桿菌病人

#10~12：acid fast stain negative、culture positive 之其他分枝桿菌病人

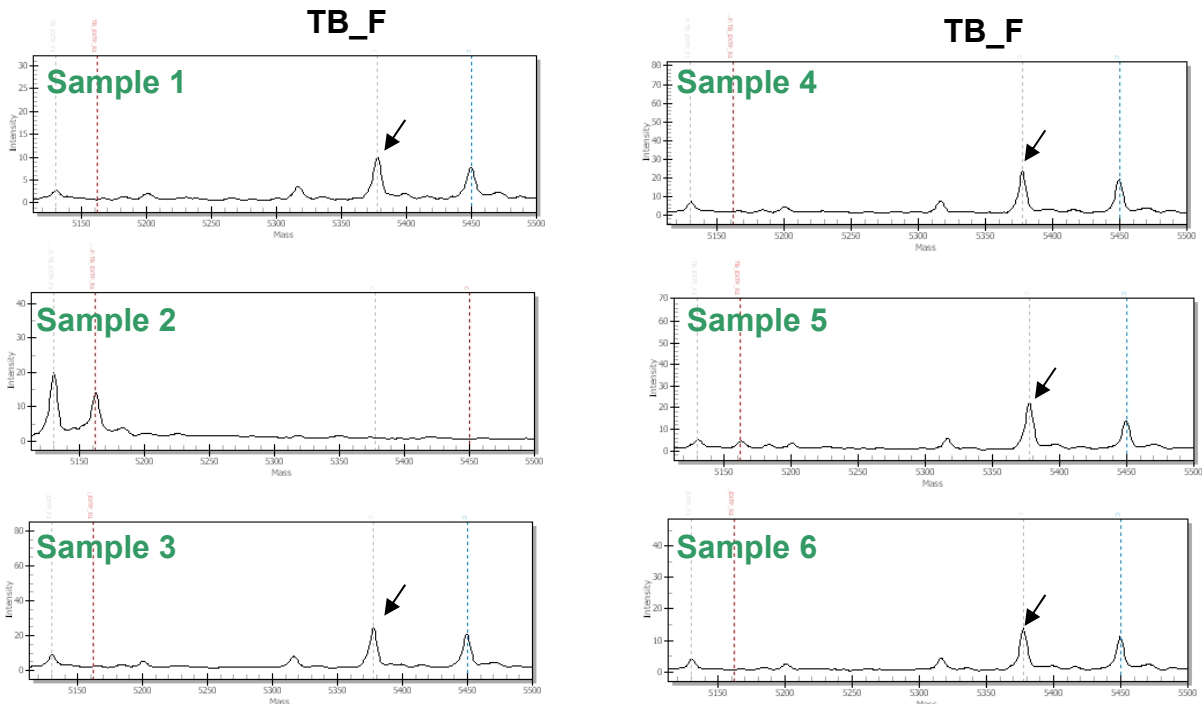
#13~15：acid fast stain negative、culture negative 之非分枝桿菌病人

且五個陽性結果與病人臨床藥物反應相符(圖十一)。



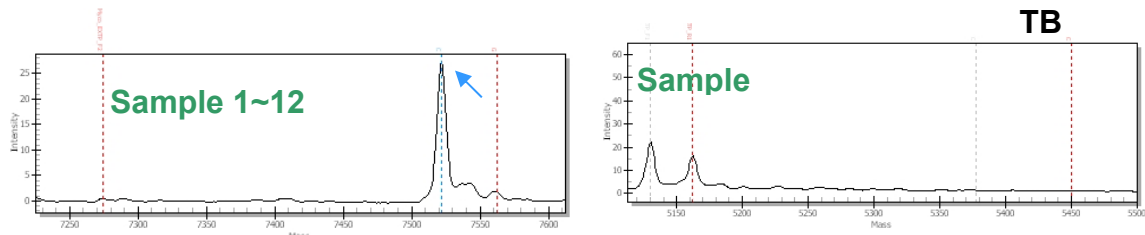
圖十一、核酸質譜儀檢測與病人臨床藥物反應相符。核酸質譜儀顯示檢體具有野生型結核分枝桿菌，與病人對於用藥敏感度相符。

下圖（圖十二）為由培養上述 15 個檢體中之結核分枝桿菌陽性病人（編號 1~6）的質譜儀測試結果，可見到除了編號 2 病人之外，其餘 5 名病人皆可測得結核分枝桿菌的訊號（見下圖黑色箭頭所指示之波峰位置）。



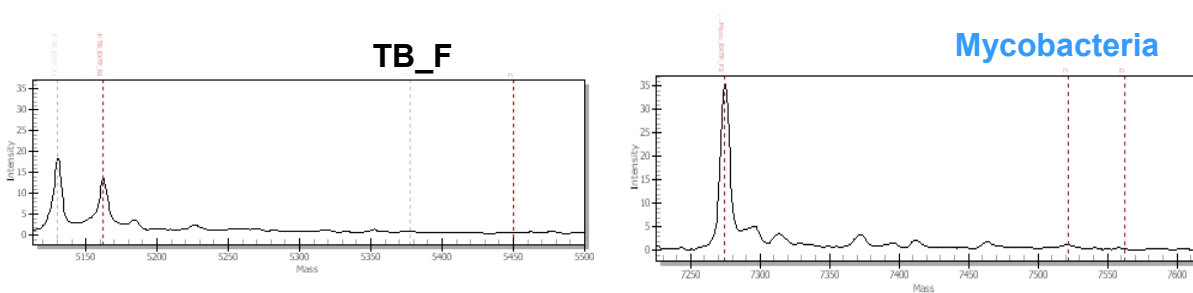
圖十二、編號 1~6 病人檢體以結核分枝桿菌特异性探針偵測結果
且編號 1~12 之病人皆可以普通分枝桿菌之探針測得訊號（見圖三左藍色箭頭所指

示之波峰位置)，其中編號 7~12 病人為其他分枝桿菌的感染，因此在結核分枝桿菌之特異探針偵測結果，的確未偵測到訊號（見圖十三下）。



圖十三、(左) 編號 1~12 病人檢體以普通分枝桿菌特異性探針偵測結果；(右) 編號 7~12 病人檢體以結核分枝桿菌特異性探針偵測結果。

而編號 13~15 的病人因非分枝桿菌感染，因此不論是結核分枝桿菌還是普通分枝桿菌的探針，皆無法看到訊號。(圖十四)

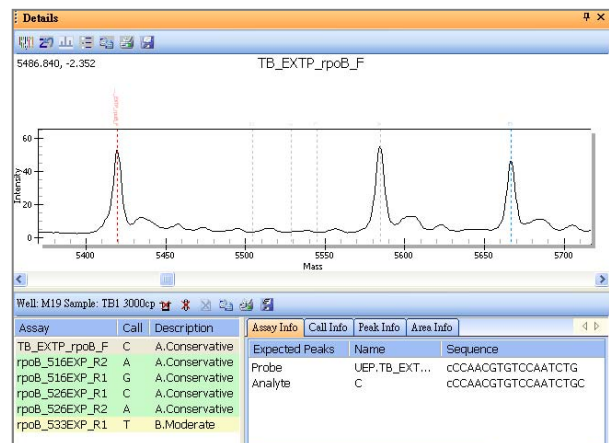
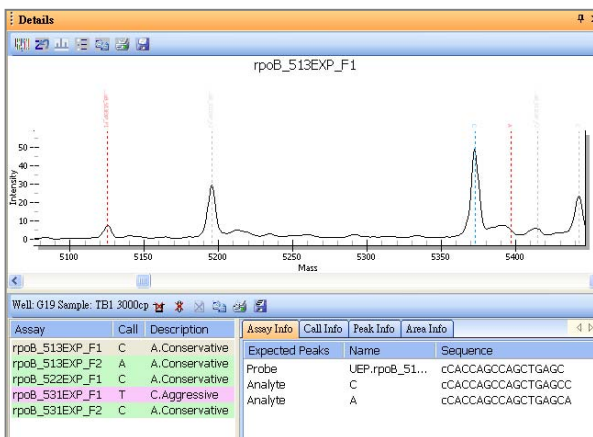


圖十四、(左) 編號 13~15 病人檢體使用結核分枝桿菌特異性探針偵測結果；(右) 編號 13~15 病人檢體使用普通分枝桿菌特異性探針偵測結果。

而在 *rpoB* 抗藥性基因偵測方面，編號 1~6 號病人皆為 *rpoB* 野生型，不具 *rpoB* 突變，此與臨床結果相符合，質譜結果以兩組方向 (forward 以及 reverse) 共 10 條探針偵測如圖十五：

rpoB forward set

rpoB reverse set



圖十五、編號 1、3~6 病人 (受結核分枝桿菌感染者) 使用 *rpoB* 基因探針偵測結果，以表三判讀均為 *rpoB* 野生型，不具有突變序列。

編號 7~15 之病人，因不具有結核分枝桿菌，其 *rpoB* 序列與結核分枝桿菌亦相異，因此 10 條 *rpoB* 之特異性探針的訊號大部分無法得到完整訊號，亦可做為一個雙重確認是否為結核分枝桿菌的方式。

而針對編號 2 之病人的說明，以質譜方法偵測結核分枝桿菌及 *rpoB* 突變，均無偵測到訊號，僅測得一般其他分枝桿菌之訊號，故需要再做進一步的確認。

其餘檢體已陸續蒐集並於 DNA 萃取後，準備進行測試。

本計畫除了上述第一階段測試 15 個臨床檢體外，因為在此階段中所收集的檢體均不具 *rpoB* 突變，尚未能充分檢驗或證明 *rpoB* 探針偵測之可用與否。因此在第二階段所進行的測試中，使用後續於 3~8 月所收集之臨床檢體，並依照所收集檢體所萃取之 DNA 品質，從中篩選出 68 個被結核分枝桿菌感染之病患檢體，以進行以下 *rpoB* 突變偵測的實驗，結果如下兩表。

第一組 *rpoB* 探針偵測結果，其中檢體編號 19 與 40 之病人的 513_F1 探針未偵測得到訊號：

Sample	513_F1	513_F2	522	531_F1	531_F2
	1537nt C-->	1538nt A-->	1565nt C-->	1591nt T-->	1592nt C-->
1	0.93%	0.00%	1.74%	18.45%	99.41%
2	0.52%	0.00%	1.42%	30.44%	3.13%
3	1.44%	0.00%	3.56%	30.23%	7.15%
4	0.58%	0.00%	1.01%	18.73%	100.00%
5	0.23%	0.06%	1.17%	23.55%	0.00%
6	0.37%	0.02%	1.68%	17.45%	99.24%
7	0.88%	0.00%	1.06%	19.11%	99.87%
8	0.42%	0.00%	2.36%	19.11%	99.85%
9	1.02%	0.00%	1.58%	27.50%	3.42%
10	1.19%	0.00%	1.30%	27.97%	0.31%
11	0.25%	0.00%	3.03%	32.35%	10.09%
12	0.45%	0.00%	2.02%	29.98%	3.32%
13	0.40%	0.00%	1.93%	29.14%	7.93%
14	0.58%	0.00%	0.88%	18.01%	99.68%
15	0.66%	0.00%	0.40%	30.63%	0.00%
16	0.31%	0.00%	1.61%	31.01%	2.03%
17	2.07%	0.00%	6.23%	34.20%	15.72%
18	0.50%	0.00%	2.48%	33.10%	10.82%
19	N/A	100.00%	3.39%	100.00%	0.00%
20	1.16%	0.00%	1.11%	31.30%	0.00%
21	1.82%	0.00%	1.28%	27.05%	2.01%
22	0.42%	0.00%	0.90%	29.65%	0.00%
23	1.02%	0.00%	0.90%	28.85%	0.85%
24	0.60%	0.00%	0.88%	28.80%	0.04%
25	0.63%	0.00%	5.08%	29.46%	15.56%
26	0.29%	0.00%	3.11%	32.80%	6.88%
27	1.19%	0.00%	0.58%	29.81%	1.75%
28	0.31%	0.00%	0.96%	29.50%	2.27%

29	0.77%	0.00%	2.08%	29.08%	3.32%
30	0.52%	0.00%	1.10%	30.31%	0.75%
31	0.53%	0.00%	1.55%	30.53%	0.96%
32	0.93%	0.00%	1.27%	28.95%	0.18%
33	0.20%	0.00%	9.71%	34.91%	19.21%
34	0.91%	0.00%	2.58%	29.90%	3.43%
35	0.73%	0.00%	1.86%	30.18%	6.85%
36	0.59%	0.00%	0.89%	29.29%	0.04%
37	0.83%	0.00%	0.78%	18.71%	99.65%
38	0.66%	0.00%	2.00%	38.53%	3.46%
39	0.81%	0.00%	1.46%	30.83%	2.67%
40	N/A	62.21%	2.77%	53.33%	5.94%
41	0.81%	0.00%	2.88%	31.64%	8.47%
42	0.97%	0.00%	2.57%	30.58%	6.05%
43	0.82%	0.00%	0.69%	17.71%	99.55%
44	0.53%	0.00%	1.09%	30.93%	0.06%
45	1.44%	0.00%	0.73%	30.11%	0.00%
46	0.65%	0.00%	0.93%	28.67%	0.00%
47	0.41%	0.00%	0.98%	28.46%	0.39%
48	0.66%	0.00%	2.35%	30.54%	5.24%
49	0.55%	0.00%	2.39%	18.65%	98.79%
50	0.93%	0.00%	1.06%	29.60%	0.00%
51	1.06%	0.00%	2.30%	19.46%	98.01%
52	0.96%	0.00%	2.78%	29.98%	6.18%
53	0.57%	0.00%	1.65%	20.59%	98.24%
54	0.48%	0.00%	1.18%	30.96%	0.27%
55	0.78%	0.10%	0.91%	18.27%	99.35%
56	0.84%	0.00%	1.00%	29.82%	0.00%
57	0.72%	0.00%	1.19%	28.84%	1.85%
58	0.69%	0.00%	1.46%	27.76%	1.09%
59	1.56%	0.00%	0.84%	21.74%	99.19%
60	0.80%	0.00%	1.23%	24.42%	0.69%
61	1.69%	0.06%	1.27%	29.07%	0.33%
62	0.40%	0.00%	0.95%	28.24%	0.00%
63	0.61%	0.02%	0.95%	30.26%	0.08%
64	1.26%	0.00%	0.80%	31.46%	0.00%
65	1.21%	0.00%	2.26%	26.28%	3.02%
66	2.06%	0.09%	2.04%	33.32%	3.28%
67	1.08%	0.34%	0.43%	30.68%	0.00%
68	0.56%	0.00%	1.32%	30.06%	0.00%

表八、初步篩選出的 68 個病人檢體之五組 *rpoB* 基因探針偵測數據，以突變比率 (mutation

ratio) 表示，計算方式為突變序列訊號強度 / (突變與野生型序列訊號強度之和) 作為突變比率之計算。

第二組 *rpoB* 探針與結核分枝桿菌偵測結果如下，其中編號 19、40、46、62 的病人在結核分枝桿菌探針測不出兩重覆一致的結果，而編號 27 的病人未測出具結核分枝桿菌的訊號。

Sample	TB_rpoB	516_R2	516_R1	526_R2	526_R1	533
		1547nt A-->	1546nt G-->	1577nt A-->	1576nt C-->	1598nt T-->
1	TB	0.05%	0.00%	4.54%	13.64%	4.24%
2	TB	0.00%	100.00%	1.94%	15.45%	4.78%
3	TB	0.07%	1.97%	2.36%	9.73%	4.27%
4	TB	0.00%	1.29%	1.11%	4.48%	3.70%
5	TB	0.00%	100.00%	7.06%	8.92%	4.16%
6	TB	0.00%	1.60%	7.34%	3.99%	3.93%
7	TB	0.00%	1.88%	2.90%	4.17%	3.35%
8	TB	0.00%	1.01%	5.29%	34.20%	3.56%
9	TB	2.96%	4.99%	10.94%	16.41%	6.99%
10	TB	0.04%	0.57%	7.06%	9.43%	3.83%
11	TB	0.00%	1.30%	1.54%	7.54%	3.56%
12	TB	0.00%	1.77%	3.12%	6.21%	2.53%
13	TB	0.00%	0.59%	1.73%	7.73%	4.12%
14	TB	0.00%	1.28%	5.61%	4.12%	3.52%
15	TB	3.01%	2.05%	8.67%	12.80%	4.33%
16	TB	4.12%	0.00%	16.04%	16.86%	5.27%
17	TB	0.00%	4.33%	2.55%	7.60%	3.08%
18	TB	0.15%	0.37%	6.64%	7.89%	3.44%
19	TB? Not TB?	0.71%	0.64%	9.95%	60.84%	3.58%
20	TB	0.00%	1.18%	0.84%	6.66%	3.53%
21	TB	0.00%	1.44%	4.02%	8.22%	3.11%
22	TB	2.98%	100.00%	10.12%	10.71%	4.25%
23	TB	0.22%	1.05%	7.37%	9.42%	3.80%
24	TB	0.00%	1.49%	7.36%	8.98%	3.48%
25	TB	0.68%	5.96%	7.58%	12.84%	4.76%
26	TB	0.00%	2.06%	3.12%	6.91%	3.36%
27	not TB	1.06%	0.84%	2.14%	5.57%	3.57%
28	TB	0.04%	0.79%	1.91%	7.19%	4.32%
29	TB	0.00%	0.00%	2.35%	6.84%	3.97%
30	TB	0.01%	1.26%	1.00%	5.97%	3.34%
31	TB	0.00%	1.13%	5.58%	8.66%	4.69%
32	TB	1.94%	1.55%	4.22%	7.66%	4.04%

33	TB	4.32%	1.33%	9.79%	12.85%	3.48%
34	TB	1.18%	0.75%	7.73%	8.64%	3.26%
35	TB	3.03%	1.32%	13.20%	11.87%	4.33%
36	TB	0.00%	0.52%	6.60%	8.44%	3.97%
37	TB	0.00%	0.35%	4.67%	2.89%	2.76%
38	TB	0.06%	0.90%	98.27%	53.90%	4.83%
39	TB	0.00%	1.81%	7.37%	8.85%	4.28%
40	TB? Not TB?	3.07%	0.62%	4.61%	22.26%	4.26%
41	TB	1.67%	5.40%	14.63%	8.03%	4.09%
42	TB	8.20%	0.00%	14.89%	16.03%	2.93%
43	TB	2.76%	0.12%	17.50%	6.67%	4.31%
44	TB	3.69%	1.62%	10.81%	9.22%	4.09%
45	TB	3.98%	0.00%	17.98%	19.85%	5.29%
46	TB? Not TB?	2.60%	0.00%	10.58%	13.65%	4.50%
47	TB	0.72%	0.68%	10.04%	11.52%	4.56%
48	TB	1.35%	0.65%	14.10%	12.15%	4.75%
49	TB	4.55%	4.91%	17.42%	7.25%	4.19%
50	TB	0.00%	0.73%	5.09%	10.36%	3.45%
51	TB	0.28%	0.85%	9.00%	4.59%	4.25%
52	TB	2.23%	0.00%	13.99%	11.37%	4.63%
53	TB	1.68%	0.94%	13.34%	5.72%	3.90%
54	TB	5.27%	0.98%	15.81%	13.23%	4.14%
55	TB	2.42%	0.85%	13.83%	5.21%	4.02%
56	TB	0.06%	0.12%	11.96%	14.33%	4.73%
57	TB	4.57%	0.14%	17.98%	17.13%	5.19%
58	TB	2.01%	1.36%	13.91%	11.17%	3.79%
59	TB	4.57%	1.03%	22.79%	18.18%	3.57%
60	TB	0.00%	100.00%	9.57%	8.97%	3.66%
61	TB	0.00%	0.74%	9.13%	10.55%	4.02%
62	TB? Not TB?	1.52%	0.58%	7.53%	8.07%	4.00%
63	TB	2.32%	1.30%	10.31%	11.66%	4.21%
64	TB	0.00%	0.61%	10.75%	9.69%	3.87%
65	TB	3.74%	0.45%	15.61%	13.38%	3.05%
66	TB	3.85%	0.02%	15.73%	14.93%	3.38%
67	TB	1.56%	0.40%	11.78%	14.03%	3.39%
68	TB	0.01%	1.47%	12.67%	11.03%	4.14%

表九、初步篩選之 68 個病人檢體五組 *rpoB* 基因探針與結核分枝桿菌專一性探針之偵測數據，以突變比率 (mutation ratio) 表示之。

綜合初步測試結果，扣除檢體品質不佳導致訊號雜亂的 5 個檢體，剩餘的 63 個檢體中，於臨床藥物感受性測試的結果中，有 14 個檢體顯示對於 rifampicin 具有抗藥性，而這 14 個檢體中，核酸質譜可偵測出其 12 個檢體具有 *rpoB* 基因突變(敏感度 = 12/14 = 85.7%)；另一方面，在 63 個檢體中，有 49 個檢體對於 rifampicin 是敏感的，而

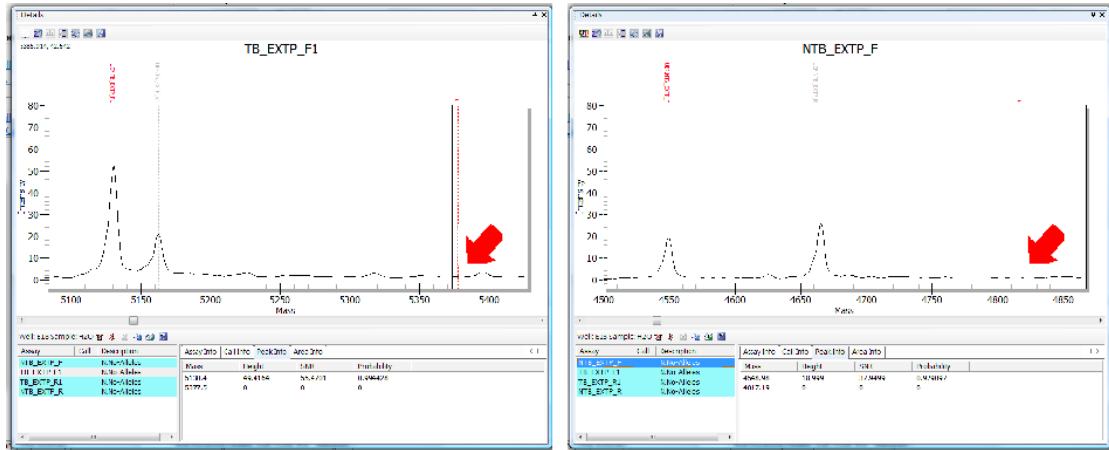
核酸質譜儀結果也顯示其中 44 個不具有 rpoB 基因突變(特異性=44/49=89.8%)，因此，證明此平台具有潛力應用於臨床檢體的檢測，然而，除了 rpoB 外，我們仍須考量到其他的基因或是目前設計位點以外的 rpoB 基因可能也有突變造成抗藥性，這些都是將來應那入臨床試驗中須要考量以及擴展檢測範圍的重點，因此，此平台應用於檢測結核分枝桿菌的確切特異性與敏感度仍須大型臨床試驗以及完整的基因突變套組來計算。

五、建立病人呼出氣冷凝液檢體結核分枝桿菌檢測平台

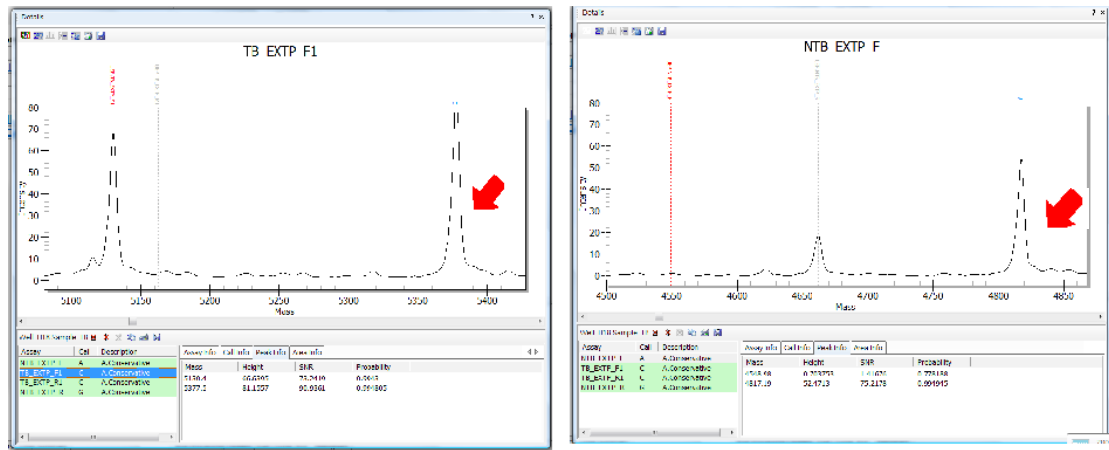
使用研究方法中描述的收集呼出氣冷凝液與萃取 DNA 之方法，萃取出所收集的病人冷凝液檢體 DNA，進行結核分枝桿菌的檢測，以做為建立冷凝液檢體結核分枝桿菌檢測平台之條件測試。

檢測結果如下(圖十六)，茲列出陰性與陽性控制組與一個病人之代表性檢體，可見到在陰性控制組(水，圖十六(A))中，不論是分枝桿菌或結核分枝桿菌專一性探針，均無偵測到訊號；在陽性控制組(TB 基因體 DNA，圖十六(B))中，兩探針均有明顯之訊號。

而在病人的冷凝液檢體(圖十七)方面，本計畫預計完成 30 例，目前已完成 35 例已確診為結核病患之呼出冷凝液測試，結果如表八所示(表八)，在 35 個檢體中，並未能檢測出結核分枝桿菌，檢討可能原因為呼出冷凝液中結核菌數或是游離態的去氧核糖核酸含量過少，導致抽取過程中無法有效截取核酸進行分析，此部份的測試仍有待後續繼續改善冷凝液蒐集方法的步驟以及接續之核酸萃取方式，方能達成檢測目的。



(A)

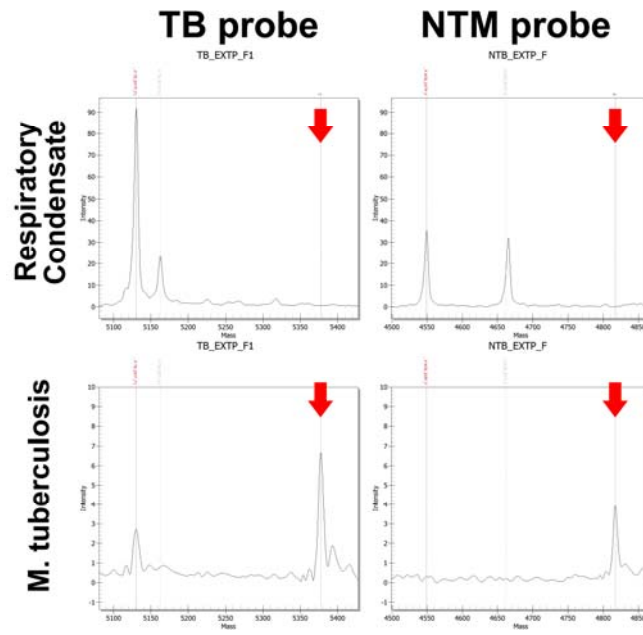


(B)

圖十六、使用冷凝液檢體檢測分枝桿菌與結核分枝核菌的結果。(A)水，陰性控制組；(B) TB 基因體 DNA，陽性控制組。

表八、病人呼出冷凝液檢測結核分枝桿菌結果表

Serial No.	Chip ID	TB	NTM	Note
1	G0487836	N	N	4 repeat
2	G0487836	N	N	4 repeat
3	G0487836	N	Y	4 repeat
4	G0590500	N	N	2 repeat
5	G0590500	N	Y	2 repeat
6	G0590500	N	Y	2 repeat
7	G0590500	N	N	2 repeat
8	G0590500	N	Y	2 repeat
9	G0590500	N	N	2 repeat
10	G0590500	N	Y	2 repeat
11	G0590500	N	Y	2 repeat
12	G0590500	N	N	2 repeat
13	G0590500	N	Y	2 repeat
14	G0590500	N	N	2 repeat
15	G0590500	N	Y	2 repeat
16	G0590500	N	N	2 repeat
17	G0590500	N	N	2 repeat
18	G0518235	N	N	2 repeat
19	G0518235	N	Y	2 repeat
20	G0487046	N	N	2 repeat
21	G0487046	N	N	2 repeat
22	G0487046	N	Y	2 repeat
23	G0487046	N	Y	2 repeat
24	G0487046	N	N	2 repeat
25	G0487046	N	N	2 repeat
26	G0487046	N	N	2 repeat
27	G0487046	N	N	2 repeat
28	G0487046	N	N	2 repeat
29	G0487046	N	N	2 repeat
30	G0487046	N	N	2 repeat
31	G0487046	N	Y	2 repeat
32	G0487046	N	Y	2 repeat
33	G0487046	N	Y	2 repeat
34	G0487046	N	Y	2 repeat
35	G0487046	N	Y	2 repeat



圖十七、核酸質譜儀檢測病人呼出冷凝液結核分枝桿菌。結果並為成功檢測出結核分枝桿菌存在。下方則為標準菌株對照組結果

伍、本年度已達成之成果

依本計劃所提欲執行之項目，截至目前為止已達成之具體成果計：

5. 成功設計結核分枝桿菌、非結核分支桿菌及其抗藥相關基因(rpoB)突變特異性引子與探針，且經測試皆具高度特異性。
6. 成功設計與第一線用藥及地二線用藥抗性相關基因突變之質譜儀偵測探針。
7. 成功建立核酸質譜儀鑑定結核分支桿菌，並定量出最低偵測靈敏度為小於十拷貝數。
8. 成功由臨床病人培養出結核菌株中鑑定出抗藥基因突變。

陸、討論

經由比對、分析所有蒐集之結核分枝桿菌、非結核分枝桿菌、檢體來源可能的污染菌以及結核分枝桿菌抗藥基因之核酸序列，找出其具特異性及保留性之核酸序列，設計出具有專一性及敏感性的引子及探針，以核酸質譜儀偵測技術為基礎，建立了較傳統方法更為快速、靈敏度高的偵測平台，希望可以早期得到結核分枝桿菌感染結果之資訊，才能掌握防疫先機。目前針對由病人檢體獨立培養出的菌株檢體，結核分枝桿菌的偵測靈敏度可達近 10 個拷貝數左右。未來目標希望於未被感染的痰液檢體中加入已知濃度之連續稀釋的分枝桿菌，並平行地以傳統方式培養相同稀釋量的該分枝桿菌，以確認添加入痰液檢體中的菌量，以更精確地去評估此方法的靈敏度。

在抗藥性基因的偵測上，我們總共建立了六個第一線與第二線用藥抗性相關的基因突變，將來可以有效區分多重抗藥性與廣泛抗藥性之結核分枝桿菌，可在第一時間掌握病人感染菌株的特性，對疾病防治與醫療策略的採用具有高度價值，我們也已經著手申請專利。

而在冷凝液檢體的平台建立方面，所收集的 35 個病人中，均未測得結核分枝桿菌，此與臨床結果不符，須再進一步確認檢體收集的方式是否確實，以及測試萃取核酸方法是否需要再做修正，不過因為呼出冷凝液中自由態的核酸含量相當少，偵測具高度困難，可以說是目前計畫執行上遇到最大的困難。

最後，對於本平台日後在國人防疫上可提供有力的檢測方式外，亦可促進生技發展、產學合作，相較其他分子檢測方法，本平台最有利的兩大特點，其一為高敏感度；其二為多基因檢測。多基因檢測可以大幅降低檢測成本，我們亦針對此平台之成本進行初步估算，在未考量人事以及機器成本的前提下，本平台單一反應管的檢測成本約為 800-1000 元左右(詳細分析請見下數表)，如以目前的檢測設計，單一病患將進行兩反應管的多基因檢測，成本約為 1600-2000，如因應再現性考量進行重覆測試，則成本約為 3200-4000，對於其他分子生物學多基因檢測之成本則具有相當大的競爭力，值得進行產學合作技術轉移。

Primer 價格 (NT\$)

Primer (25 nm)	9	元/mer	
PCR_F_Primer	30	mer	(20 mer +10 mer Taq)
PCR_R_Primer	30	mer	(20 mer +10 mer Taq)
Extension Primer	30	mer	
Total cost	810	元	

*以第一次實驗都訂購全新 primer 成本計算

Reagent 及 CHIP 價格 (NT\$)

Rxns	3840	384	96	1
PCR reagent	100,800	10,080.0	2520	26.25
iPLEX Pro reagent & CHIPII	604,000	60,400.0	15100	157.3

機器維護成本 (NT\$)

	元 / 年	
維護合約/ 年	850,000	(Compact + NanoDispenser)
雷射(保固 18 個月)	866,667	(130 萬/18 個月 x 12 個月)
總成本 / 年	1,716,667	

* 若需額外購買 CHIP 成本如下:

CHIP II	135,000	13,500.0	—	—
---------	---------	----------	---	---

每天打 CHIP 片數	2	片
每月工作天數	20	天
成本 (元/ Rxn)	9.32	元/ Rxn

*以總成本 / (一天打 CHIP 片數 x 每月工作天數 x 12 個月 x 一片 CHIP 384 Rxns 計算)

總價(NT\$)

PLEX 數 Rxn 數	4			17		
	Primer 成本	Reagent + 機器成本	總成本	Primer 成本	Reagent + 機器成本	總成本
384	3,240	74,063	77,303	13,770	74,063	87,833

* Primer 成本: Primer 組數 x Plex 數

* 以湊滿 384 Rxns 之 Reagent & CHIP + 機器成本 計算:

Rxn 數 x (PCR reagent + TypePLEX reagent & CHIP 單價 + 機器維護成本)

每個 Sample 成本(NT\$)

重複數	2
不含 Primer	771.52
含 Primer	860.1

柒、本年度計畫重要研究成果及對國家政策之具體建議

1.本計畫之新發現或新發明

本計畫利用基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜儀 (MALDI-TOF MS, matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry)，建立新穎性高敏感度的結核菌偵測平台，以改進傳統結核菌檢測低敏感度、低特異性與耗時之缺失，除此之外，對於日益嚴重之結核菌抗藥性，本系統亦可以提供早期診斷與預防的防疫機制，而且對於持續投藥之病患亦可以監控其抗藥性產生，提供快速鑑定，及早投藥之個人化醫療策略。

2.本計畫對民眾具教育宣導之成果

全球結核病的威脅日益嚴重，結核病的防治首要是解決結核菌鑑定的問題，如何縮短鑑定所需的時間、提高檢出率、解決臨床上無痰病患的檢查難題等。本計畫建立了一個結核病的快速篩檢系統，可以導正民眾對於結核病難鑑定的迷思。同時，為結核病病患提供一個及早治療的契機。

3.本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

一個快速且高靈敏結核菌檢驗方法針對結核病高危險群的全面篩檢以及治療中病患的追蹤有正面的幫助。建議，待系統建置完成且取得認證後，可以將此系統推廣各結核病檢驗中心，使得結核菌的檢驗可以系統化與制度化，這將有助於台灣結核病的防制工作。此外，在整個研發的過程中，雖高敏感度的平台有非常重要之角色，然而，對於取樣不完全或者取樣不適當的檢體來源，將大幅影響檢測的檢出率，本計畫建議各醫院臨床單位統一痰液檢體的蒐集標準作業程序，以及其核酸抽取的統一方式，因為在本計畫的執行過程中，痰液檢體核酸的抽取以及抽取後的品質將會影響檢驗效果，而痰液又是目前結核病人較易取得之第一線檢體，因此有其標準化程序的需求。

捌、参考文献

1. WHO/IUATLD: Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance: Anti-Tuberculosis drug resistance in the world. WHO/HTM/TB Report No.4 Annex 9:394, 2008
2. Anonymous: Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing., Geneva, Switzerland: WHO, 2008
3. Iseman MD: TB elimination in the 21st century, a quixotic dream? *Int J Tuberc Lung Dis* 4:S109-10, 2000
4. Cruciani M, Scarparo C, Malena M, et al: Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 42:2321-5, 2004
5. Yeager H, Jr., Lacy J, Smith LR, et al: Quantitative studies of mycobacterial populations in sputum and saliva. *Am Rev Respir Dis* 95:998-1004, 1967
6. Carrara S, Vincenti D, Petrosillo N, et al: Use of a T cell-based assay for monitoring efficacy of antituberculosis therapy. *Clin Infect Dis* 38:754-6, 2004
7. Scanga CA, Mohan VP, Yu K, et al: Depletion of CD4(+) T cells causes reactivation of murine persistent tuberculosis despite continued expression of interferon gamma and nitric oxide synthase 2. *J Exp Med* 192:347-58, 2000
8. Ordway DJ, Costa L, Martins M, et al: Increased Interleukin-4 production by CD8 and gammadelta T cells in health-care workers is associated with the subsequent development of active tuberculosis. *J Infect Dis* 190:756-66, 2004
9. Wassie L, Demissie A, Aseffa A, et al: Ex vivo cytokine mRNA levels correlate with changing clinical status of ethiopian TB patients and their contacts over time. *PLoS One* 3:e1522, 2008
10. Wu B, Huang C, Kato-Maeda M, et al: Messenger RNA expression of IL-8, FOXP3, and IL-12beta differentiates latent tuberculosis infection from disease. *J Immunol* 178:3688-94, 2007
11. Camus JC, Pryor MJ, Medigue C, et al: Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology* 148:2967-73, 2002
12. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, et al: Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 393:537-44, 1998
13. Pai M, Kalantri S, Dheda K: New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: part II. Active tuberculosis and drug resistance. *Expert Rev Mol Diagn* 6:423-32, 2006
14. Palomino JC: Newer diagnostics for tuberculosis and multi-drug resistant tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 12:172-8, 2006
15. Shamputa IC, Rigouts, Portaels F: Molecular genetic methods for diagnosis and antibiotic resistance detection of mycobacteria from clinical specimens. *APMIS* 112:728-52, 2004
16. Kivihya-Ndugga L, van Cleeff M, Juma E, et al: Comparison of PCR with the routine procedure for diagnosis of tuberculosis in a population with high prevalences of tuberculosis and human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol* 42:1012-5, 2004
17. Sperhacke RD, Mello FC, Zaha A, et al: Detection of *Mycobacterium tuberculosis* by a polymerase chain reaction colorimetric dot-blot assay. *Int J Tuberc Lung Dis* 8:312-7, 2004
18. Dalovisio JR, Montenegro-James S, Kemmerly SA, et al: Comparison of the amplified *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) direct test, Amplicor MTB PCR, and IS6110-PCR for detection of MTB in respiratory specimens. *Clin Infect Dis* 23:1099-106; discussion 1107-8, 1996
19. Mori Y, Nagamine K, Tomita N, et al: Detection of loop-mediated isothermal

- amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochem Biophys Res Commun* 289:150-4, 2001
20. Boehme CC, Nabeta P, Henostroza G, et al: Operational feasibility of using loop-mediated isothermal amplification for diagnosis of pulmonary tuberculosis in microscopy centers of developing countries. *J Clin Microbiol* 45:1936-40, 2007
 21. Green C, Huggett JF, Talbot E, et al: Rapid diagnosis of tuberculosis through the detection of mycobacterial DNA in urine by nucleic acid amplification methods. *Lancet Infect Dis* 9:505-11, 2009
 22. Braun A, Little DP, Koster H: Detecting CFTR gene mutations by using primer oligo base extension and mass spectrometry. *Clin Chem* 43:1151-8, 1997
 23. Haff LA, Smirnov IP: Single-nucleotide polymorphism identification assays using a thermostable DNA polymerase and delayed extraction MALDI-TOF mass spectrometry. *Genome Res* 7:378-88, 1997
 24. Jurinke C, van den Boom D, Jacob A, et al: Analysis of ligase chain reaction products via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight-mass spectrometry. *Anal Biochem* 237:174-81, 1996
 25. Little DP, Braun A, Darnhofer-Demar B, et al: Identification of apolipoprotein E polymorphisms using temperature cycled primer oligo base extension and mass spectrometry. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 35:545-8, 1997
 26. Liu YH, Bai J, Zhu Y, et al: Rapid screening of genetic polymorphisms using buccal cell DNA with detection by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 9:735-43, 1995
 27. Taranenko NI, Matteson KJ, Chung CN, et al: Laser desorption mass spectrometry for point mutation detection. *Genet Anal* 13:87-94, 1996
 28. Fu DJ, Tang K, Braun A, et al: Sequencing exons 5 to 8 of the p53 gene by MALDI-TOF mass spectrometry. *Nat Biotechnol* 16:381-4, 1998
 29. Roskey MT, Juhasz P, Smirnov IP, et al: DNA sequencing by delayed extraction-matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:4724-9, 1996
 30. Hurst GB, Doktycz MJ, Vass AA, et al: Detection of bacterial DNA polymerase chain reaction products by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 10:377-82, 1996
 31. Jurinke C, Zollner B, Feucht HH, et al: Detection of hepatitis B virus DNA in serum samples via nested PCR and MALDI-TOF mass spectrometry. *Genet Anal* 13:67-71, 1996
 32. Amita J, Vandana T, Guleria RS, et al: Qualitative Evaluation of Mycobacterial DNA Extraction Protocols for Polymerase Chain Reaction. *Molecular Biology Today* 3:8, 2002

分項計畫 212. 結核病免疫磁減量偵測套組之開發

摘 要

本計畫利用免疫磁減量技術，進行結核病的檢測套組開發，希望能藉由免疫磁減量技術的高靈敏度、高專一性及低干擾性的方法學特性，能達到更簡單、方便、準確的結核病篩檢。計畫中共分為三個部分，第一部分先選擇合適之偵測標的：以結核菌 *Mycobacteria tuberculosis* 中 RD1 基因的 *esat6* 以及 *lhp* 為主，選殖此兩段基因並利用 *E. coli* 將其表現出來。第二部分是將大量表現之 ESAT6 及 CFP10 兩個蛋白質，進行磁性奈米粒子的接合，利用此經過蛋白質接合標定之磁性奈米粒子，與血清檢體反應，觀測其抗體檢測之結果並紀錄。第三部分是將全血檢體中的單核球細胞分離培養，再以純化出之 ESAT6 及 CFP10 兩種蛋白質進行刺激，另一方面以抗人類 IFN-r 之抗體與磁性奈米粒子接合，將此接合物與單核球培養之上清液反應，偵測 IFN-r 上升量值，觀測其結果並記錄。上述兩部分試驗並同時架構 ELISA 檢測平台。最後將兩種不同方法學之結果同時與 ELISA 方法學、醫師診斷結果同時進行比較，將可以明確得知免疫磁減量技術應用於結核病檢測之狀況。

關鍵字：結核病、診斷、免疫磁減量套組

Abstract

Tuberculosis (TB) is one of worldwide disease caused by the organism, *Mycobacteria tuberculosis*. Culture is the gold standard and may take up to 2 weeks or longer for diagnosis TB traditionally. Therefore, it is important to develop newer diagnostic option can be more efficient, easy and accurate for detect Tuberculosis. Since the high sensitivity, specificity and low interference of ImmunoMagnetic Reduction (IMR), we established a platform to detect ESAT, CFP10 and IFN- γ with IMR for early diagnosis TB with IMR. In this study, we divided into three parts and two methodologies. Firstly, we transform and express the *esat6* and *hlp* of RD1 of *Mycobacteria tuberculosis* to obtain the ESAT and CFP10. Second, we construct magnetic nanoparticle which coated with the ESAT6, CFP10 and used the antibody to detect in the serum sample. Third, we stimulated and culture the monocyte we isolate in the whole blood with the ESAT6 and CFP10. We also conjugated the magnetic nanoparticle with the anti-IFN- γ at the same time. The conjugate and the monocyte we culture were mixed for detect the IFN- γ . We also established a ELISA platform with the ESAT, CFP10 and IFN- γ . Later, we evaluate the possibility of the IMR platform to diagnosis TB by comparing the result of two methodologies, the ELISA and the conventional diagnostic testing.

Key word : Tuberculosis · *Mycobacteria tuberculosis* · Immuno Magnetic Reduction, IMR, kit

壹、前言

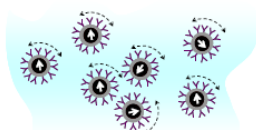
1.1 免疫磁減量偵測技術介紹

過去二十年來，磁性奈米粒子已逐漸被應用在生醫領域，在1990年代後期，一種新穎的應用被提出：磁性標劑免疫檢測(magnetically labeled immunoassay)[1]。其中的關鍵技術，是用具特殊生化活性(如抗體)的磁性奈米粒子，來標定特定的生物分子，如蛋白質。再藉由量測這些奈米粒子的磁性變化，以量測出生物分子的含量。此檢測方法被提出後，全球有許多研究群相繼投入此方面的研發。根據文獻，目前量測的磁性變化有交流磁導率[2]、殘磁[2]、飽和磁化率[3]、或是磁鬆弛[1]。

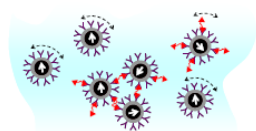
於2006年，有一種新的磁性標記免疫檢測技術被提出，稱之為磁減量免疫檢測法(Immuno Magnetic Reduction, IMR) [4]。此方法的免疫磁減量(ImmunoMagnetic Reduction, IMR)是利用分散在水中之披覆有生物探針的磁性奈米粒子與待測生物分子結合後，形成磁性粒子叢集(magnetic cluster)，或造成磁性粒子變大變重。再藉由量測因這些磁粒子叢集或大磁粒子的形成而改變試劑磁性大小，以探知待測生物分子濃度的新穎檢測方式。

生物探針的選擇是使用與待測生物分子具高專一性及強力結合性的抗體或抗原。該磁性試劑在外加交流磁場下，所發出的混頻交流磁訊號(χ_{ac})。當上述的外加交流磁場頻率在幾十到幾百萬赫茲時，磁性試劑中的單顆磁珠會受到外加交流磁場的驅動，產生旋轉，磁性試劑因而產生交流磁訊號(χ_{ac})。而當磁性試劑與待測樣品混合後，樣品中的待測生物分子會透過磁珠表面上的生物探針(如抗體)，與磁珠相結合。如此，將造成試劑中的部份磁珠體積變大，甚或造成多顆磁珠聚集在一起。在此情況下，磁性試劑中可受外加磁場驅動而旋轉的磁珠數目，與先前未與待測樣品混合時的旋轉磁珠數目相較，會少了許多(5,6)。因此，磁性試劑的交流磁訊號(χ_{ac})會因待測樣品中受檢生物分子與磁珠的結合，而被降低。當樣品中含有越多的待測生物分子時，將有越多的磁珠與待測生物分子相結合，因此將會表現出更大的磁減量。(如下示意圖)

(a) $\chi_{ac,0}$



(b) $\chi_{ac,\phi} (< \chi_{ac,0})$



圖一、具生物探針之磁性奈米粒子在外加交流磁場下受磁場驅動而轉動之示意圖。(a)是磁性粒子未與待測生物分子結合(b)是部份磁性粒子與待測分子結合。

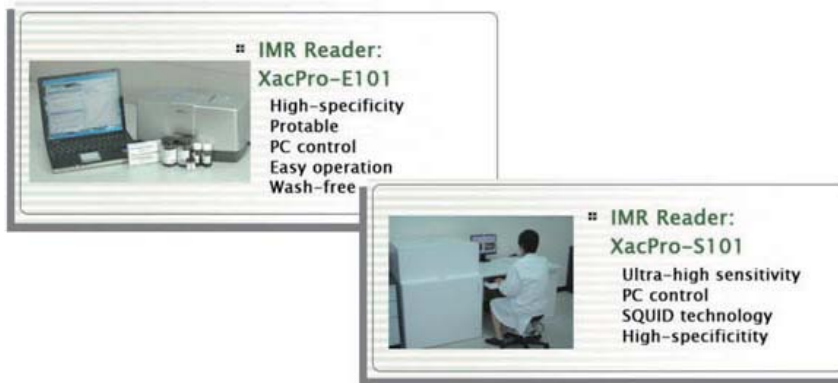
所以，透過磁性試劑的磁減量量測，我們可測得樣品中待測生物分子的含量。免疫磁減量技術檢測敏感度最高可達 10^{-3} ppt (part per trillion = 10^{-15} g/ml)、以及相當大的檢測範圍(10^{-3} ppt ~ 10 ppm)。基本上，免疫磁減量技術在血清型檢體系統內，所能達到的分析靈敏度是比ELISA 靈敏約10~100 倍(7,8)。免疫磁減量檢測技術已有開發的產品如蘭花病毒檢測試劑(9)、H5N1病毒檢測試劑(10)以及血液中血紅素含量檢測試劑(11)。在研究界關於本技術之技術推進方面亦有所突破，中研院吳金洙特聘研究員與海洋大學呂明

偉助理教授，以魚類的神經壞死症病毒(NNV)，透過本技術來偵測NNV 病毒量，可以偵測 10^2 TCID₅₀/ml 以下的病毒量，因此技術上之可行性相當高。

根據上述原理，磁減量免疫檢測法與現有免疫檢測技術(ELISA, RIA 等)相較之下，可整合出多項優勢：

- i. 檢測時只需一種抗體或抗原，僅需一種生物探針，成本低，應用範圍廣。
- ii. 專一性高，在特定磁場下非專一性的抗體-抗原結合會因高速自轉而甩開。
- iii. 磁性量測不受樣品顏色干擾，生物樣品中亦無磁性物質，干擾比光學法低。
- iv. 不需進行將未與待測分子結合之標記物加以分離的步驟，適用於快速免疫檢測。
- v. 不需多重抗體抗原結合與清洗步驟，檢測程序簡單。
- vi. 可進行定量檢測。

現在已商業化之免疫磁減量技術及專利為國內廠商所有，已開發出偵測儀器(圖二)，且已有查驗登記，試劑儀器價格與進口商品相較均十分低廉，為十分具有潛力的平台。試劑套組開發成功後，將轉移國內廠商進行後續商品化。



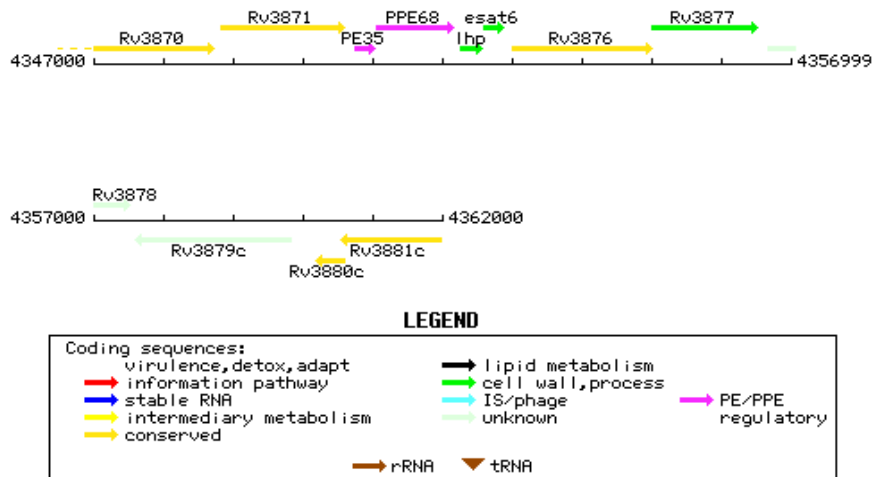
圖二、國內廠商已發展之IMR判讀系統

1.2 結核病之診斷(diagnosis)與近年研究狀況

結核病的診斷依據在傳統上可分為兩種：第一為胸部X光檢查，直接觀察病患肺部情形，但此方法侷限於肺內結核者；第二為結核菌檢驗，直接將痰抹片或檢體以抗酸性染色(Acid fast stain)處理，觀察抹片中是否有紅色桿菌存在(12)，但此方法靈敏度較差，若將痰液或檢體進行培養，則大約需要四到六周的時間才能判定是否受到結核桿菌感染。此外，也有利用結核桿菌純化抗原(tuberculin purified protein derivate, PPD)進行結核菌素皮膚測試(tuberculin skin test, TST)(13)做為診斷依據，但由於PPD是以熱殺死結核桿菌後，以沉澱法所得到的蛋白質混合物，成份非常不明確，品質不易掌控，因此特异性不佳，其中的蛋白抗原會與非致病的分支桿菌及卡介苗發生交叉反應(14)。1990年後雖發展出以聚合酶鏈鎖反應(Polymerase chain reaction, PCR)檢測結核桿菌DNA之方法，但由於進行PCR過程中DNA片段易受污染，導致偽陽性結果(15)，或因抽取DNA之效率無法確認因而導致偽陰性，甚或因某些抑制劑存在而影響準確性，此外，PCR所需成本較高且操作人員須經訓練，故此方法於臨床上應用上仍有限制。

在1996年後由於分子生物技術的成熟化，對結核桿菌的研究有突破性的發展，包含標準菌株 *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv的全定序完成(16)，在*M. bovis* BCG 的基因上發現與*M. tuberculosis* 最大的差異區段 RD1(region of different/deletion)(17)(圖三)，且此

區段只在結核桿菌、致病性分支桿菌和少數環境中分支桿菌中表現，在所有的*M. bovis* BCG不同的疫苗株皆不出現(18)。之後經過分析便發現*M. tuberculosis* 在此段基因序列上有 *esat6* 以及 *lhp*個基因，分別代表ESAT-6與CFP-10兩個分泌性抗原(19)，這兩個抗原為特殊的外泌性蛋白質，本身不帶有 secretory signal peptide序列，但是卻會在結核菌胞外大量表現，並且會引發T細胞產生免疫反應(20,21)。



圖三、RD1 of *M. tuberculosis*

在接著的數年內，在2003年前對於ESAT-6以及CFP-10的相關發表量達到最高峰，除了對於Mycobacteria菌屬以及其他high-GC content 的菌做了ESAT基因家族(ESAT families)的分析(22)，系統性的分析可以讓研究者知道類似基因的表現以及相關基因的重要性，更可以在設計檢驗標的之前了解可能的非專一性反應之機率。此外對於ESAT 基因家族本身在結核病的重要性上，有研究者將ESAT從感染性結核菌*M. tuberculosis*之中移除，會導致其對人類、老鼠細胞的感染性皆下降(23)，導致致病株會有類似*M bovis* BCG的表現。在疫苗設計上，也有研究者發現在*M bovis* BCG 加入ESAT6 蛋白質之後，會有保護效益增加的狀況。

ESAT family 相關基因以及蛋白質的一連串發現，對於結核病診斷也發生了很大的影響。由於檢體的採集容易，均質性高，相對干擾低，所以血清免疫檢驗在醫療系統中還是最受重視的，尤其在傳染性疾病的檢測和監控。但在結核病多年來的研究中，卻發生了不少的困擾，主要的因素就是卡介苗的普及，在未發現差異性蛋白質之前，抗體檢測實不可行。在抗原檢測方面，無論何種檢體，都不容易檢出TB特異性抗原的存在。

在 ESAT-6 和 CFP-10 發現後，所有檢測相關研究者都對這兩個蛋白質抱有莫大的希望。在 2000 年時首批研究者發表先關文獻表示，在 PPD 皮膚測試中和細胞學的刺激檢測 IFN- γ 實驗中，發現 ESAT-6 和 CFP-10 對結核桿菌有極高的特異性(24)。基於此研究的基礎，後續經過廠商的改進與發展，已經有兩家廠商以同樣方法學，不同的檢測形式，發展出兩套在市面上銷售的檢測試劑，分別稱為 QuantiFERON-TB Gold, T SPOT-TB (如圖)。



cellestis

Antigens: ESAT6-CFP10

IFN- γ by ELISA



Oxford
Immunotec

Antigens: RD1 protein

IFN- γ by ELISPOT

這兩套試劑套組的基礎原理，都是利用外加或者預先處理之蛋白質(內含ESAT6及CFP10)，刺激血液檢體中的免疫單核球細胞，經培養後檢測IFN-r的表現量。若檢體來源者曾經被結核菌所感染，其單核球細胞已經可以辨識ESAT6及CFP10這兩個強烈的T細胞抗原，馬上會有大量的 IFN-r 釋出，已啟動後續的免疫反應。若檢體來源者打過卡介苗，或完全沒有結核病的感染，則不會有IFN-r的大量表現。因為卡介苗中的BCG 蛋白，完全不含有ESAT6及CFP10這兩個特殊蛋白，而正常未感染者即便接觸過其他細菌，也不會有太多的非專一性反應。

在2003以後，雖然有部份的文獻發表，關於其他的抗原標的之血清抗體/抗原檢測，包含circulating antigen of 55-kD(TB55)(25)，tuberculosis-associated glycolipid antigen (TBGLs) (26)，serum tuberculosis specific antigen(TB-SA) (27)，但是其表現可能不如預期良好，或者後續發展都沒有繼續下去。近期發表有極高專一性(>98%)，但是靈敏度卻僅有六成左右的血液抗體研究，使用的是結合CFP10和38kD Antigen 兩種抗原的ELISA檢測(28)。基本上，ESAT6和CFP10應該是最有機會做為臨床結核病篩檢的最佳標的。

由於免疫磁檢量技術的高靈敏度特性，能超越傳統ELISA的最低檢測極限，或許藉由磁性奈米粒子與ESAT6和CFP10兩種抗原相結合，可以達到理想的檢驗預期目標。因此在本計畫中，先將使用選殖方式將ESAT6和CFP10表現出大量蛋白質，再結合在磁性奈米粒子上，做直接抗體的偵測。此外，也仿照Anderson等人之試驗，也做以ESAT6和CFP10刺激細胞IFN-r 產生之試驗，希望減少細胞刺激的時間即可在較短時間內偵測出IFN-r，或許能超過現有市售試劑，完成更快更準確之結核病篩檢試劑。

1.3 研究目的

多年來醫學界一直在找尋快速而簡便的結核病診斷方法，然而因為方法學、採檢誤差、交叉汙染等等因素，一直沒有一個最好的方式。從檢體均質性以及採檢容易的角度著眼，血液檢體一直是重要的角色，而利用血液檢體於結核病的檢測，則必須借重於免疫檢驗。本研究將進行兩種不同偵測標的(結核病專一性抗體、病人單核球釋出之大量IFN-r)之免疫檢測套組的開發，在計畫中選擇合適的抗原，並找出針對不同種類樣品的簡易前處理條件(偵測抗體部分血清可稀釋後直接上機，偵測IFN-r部分須簡易前處理)，評估其專一性與再現性。

貳、本年度欲執行之項目

本計畫希望藉由免疫磁減量技術的高靈敏度、高專一性及低干擾性的方法學特性，能達到更簡單、方便、準確的結核病篩檢。計畫共分為三個部分，第一部分先選擇合適之偵測標的：以結核病菌 *Mycobacteria tuberculosis* 中 RD1 基因的 *esat6* 以及 *hpa* 為主，選殖此兩段基因並利用 *E. coli* 將其表現出來。第二部分是將大量表現之 ESAT6 及 CFP10 兩個蛋白質，進行磁性奈米粒子的接合，利用此經過蛋白質接合標定之磁性奈米粒子，與血清檢體反應，觀測其抗體檢驗之結果並紀錄。第三部分是將全血檢體中的單核球細胞分離培養，再以純化出之 ESAT6 及 CFP10 兩種蛋白質進行刺激，另一方面以抗人類 IFN- γ 之抗體與磁性奈米粒子接合，將此接合物與單核球培養之上清液反應，偵測 IFN- γ 上升量值，觀測其結果並記錄。上述第二、第三兩部分試驗除架構免疫磁減量套組之外並同時架構 ELISA 檢測套組。最後將兩種不同偵測標的之結果同時與 ELISA 方法學、醫師診斷結果同時進行比較，將可以明確得知免疫磁減量技術應用於結核病檢測之可行性。

參、材料與方法

3.1 實驗藥品

- 3.1.1. primer 合成：百力生物科技、台灣台北
- 3.1.2 勝任細胞 (*E. coli* DH5a/ BL21)：芮寶生物科技股份有限公司、台灣新北市
- 3.1.3 Simple Red™ DNA Polymerase：ABgene®, UK。岑祥股份有限公司代理、台灣台北
- 3.1.3 deoxy-ribonucleoside triphosphate：Thermo scientific, USA。岑祥股份有限公司代理、台灣台北
- 3.1.4 5-bromo-4-chloro-indolyl-galactopyranoside：Zymo Research Corporation, USA。萬造生技股份有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.5 Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside：Zymo Research Corporation, USA。萬造生技股份有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.6 pGEM-T Easy vector：Promega Madison, WI, USA。勁因科技有限公司代理、台灣台北
- 3.1.7 Luria Broth：BD Difco, Franklin Lakes, NJ USA。啟新生物科技有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.8 Agar：BD Difco, Franklin Lakes, NJ USA。啟新生物科技有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.9 Ampicillin：BIO BASIC Inc., Canada。伯昂有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.10 Urea：BIO BASIC Inc., Canada。伯昂有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.11 Tris：BIO BASIC Inc., Canada。伯昂有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.12 Sodium phosphate：Merk, Munchen, Germany。台灣默克股份有限公司、台灣台北
- 3.1.13 Tween 20：BIONOVAS®, Toronto. Ontario. Canada。伯昂有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.14 Bovine Albumin (BSA)：Sigma-Aldrich®, St.Louis, USA。友和貿易股份有限公司代理、台灣台北
- 3.1.15 Sodium hydrogen carbonate (NaHCO_3)：Merk, Munchen, Germany。台灣默克股份有限公司、台灣台北
- 3.1.16 Sodium chloride (NaCl)：BIONOVAS®, Toronto. Ontario. Canada。伯昂有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.17 Sodium Phosphate Dibasic (Na_2HPO_4)：J. T. Baker, New Jersey, USA。友和貿易股份有限公司代理、台灣台北
- 3.1.18 IFN-r polyclonal Antibody(pAb)：Thermo scientific, USA。岑祥股份有限公司代理、台灣台北
- 3.1.19 IFN-r monoclonal Antibody(mAb)：Thermo scientific, USA。岑祥股份有限公司代理、台灣台北
- 3.1.20 IFN-r recombinant protein：BioVision, California, USA。太鼎生物科技有限公司代理、台灣新北市
- 3.1.21 TMB ELISA substrate：Sigma-Aldrich®, St.Louis, USA。友和貿易股份有限公司代理、台灣台北

3.2 實驗方法

- 3.2.1 搜尋並確認合適抗原區段及選殖抗原重組蛋白設計：

- Target sequence from: *M. tuberculosis* H37RV
 - cloning vector/host: pGEMT / *E. coli* DH5a
 - expression vector/host: pET28a / *E. coli* BL21
- 3.2.2 基因選殖及重組蛋白 ESAT6 & CFP10 大量表現，純化：
- a. 將設計完成之基因序列提交全基因合成，PCR 完成後進行 clone。
 - b. Clone 入 expression vector 後進行 transform。
 - c. 以 transform 完成之 host 進行蛋白大量表現。
 - d. 對表現出之 ESAT6 & CFP10 重組蛋白質進行純化及分析。
- 3.2.3 標準品多株抗體製備：
- a. 將 ESAT6 & CFP10 重組蛋白大量生產 10mg 以上。
 - b. 將純化後之蛋白質進行兔子免疫注射。
 - c. 採血確認特異性 IgG 含量上升。
 - d. 採集血清，進行純化並保存。
- 3.2.4 ESAT6 & CFP10 重組蛋白磁性奈米粒子接合及效能測試：
- a. 將純化後之蛋白質進行磁性奈米分子接合
 - b. Blocking、純化後添加安定劑完成製備
 - c. 以製備完成之磁性奈米粒子(帶有 ESAT6, CFP10)，與標準品 pAb 進行反應
 - d. 紀錄反應狀況，最低偵測極限、最高偵測極限
- 3.2.5 ESAT6 & CFP10 ELISA 抗體檢測套組建構測試：
- a. 以 ESAT6 & CFP10 以 indirect ELISA 模式，將抗原蛋白進行 ELISA plate coating
 - b. Blocking 完成後，製備待用
 - c. 以製備完成後之 ELISA plate 與標準品 pAb 進行反應
 - d. 紀錄反應狀況，最低偵測極限、最高偵測極限
- 3.2.6 ESAT6/CFP10 磁性奈米粒子實際檢體抗體檢測：
- 實際測試陽性檢體 10 支、陰性檢體 10 支，紀錄測試狀況。
- 3.2.7 Anti human IFN-r mAb/pAb 效能挑選
- 由於市售之 mAb, pAb 對於 IFN-r 標準品之強度不一，本部分必須採購及挑選合用之抗體進行測試。
- 3.2.8 Anti human IFN-r mAb/pAb 磁性奈米粒子接合及效能測試
- a. 將選定之 mAb/pAb 進行磁性奈米分子接合
 - b. Blocking、純化後添加安定劑完成製備
 - c. 以製備完成之磁性奈米粒子(帶有 anti human IFN-r 抗體)，與標準品 IFN-r 進行反應
 - d. 紀錄反應狀況，最低偵測極限、最高偵測極限
- 3.2.9 Anti human IFN-r ELISA 套組建構測試
- a. 以 sandwich ELISA 模式，將 pAb 進行 ELISA plate coating
 - b. Blocking 完成後，製備待用
 - c. 以製備完成後之 ELISA plate 與標準品 IFN-r 進行反應
 - d. 紀錄反應狀況，最低偵測極限、最高偵測極限
- 3.2.10 ESAT6/CFP10 誘導 IFN-r 於 Anti human IFN-r mAb/pAb 磁性奈米粒子之檢驗測試
- 實際測試陽性檢體 10 支、陰性檢體 10 支，紀錄測試狀況。
- 3.2.11 ESAT6/CFP10 誘導 IFN-r 於 IFN-r ELISA 檢測套組測試
- 實際測試陽性檢體 10 支、陰性檢體 10 支，紀錄測試狀況。

肆、結果

第一部分 結核病偵測標的選定

1. 確認合適抗原區段及設計引子選殖抗原重組蛋白 ESAT6 & CFP10
依照 *M. tuberculosis* H37RV 抗原區 (*esat6* 和 *hpa*) 計四對引子進行 clone (表 1)，其中兩對分別針對 *esat6* 和 *hpa*，另外兩對設計成能產生 ESAT6 & CFP10 的重組蛋白，並將重組蛋白片段建構於載體 pET28 上(圖 1)，並定序確認其序列與轉譯胺基酸序列正確(圖 2)。
2. 基因選殖及重組蛋白 ESAT6 & CFP10 大量表現，純化。
將構築完成之 pET28 轉入 *E. coli* BL21，以 IPTG 誘導後，將菌體打破，收取蛋白；跑膠確認誘導效果與產物是否如預期-28KDa(圖 3a.)；接著利用 His-tag 純化重組蛋白 ESAT6 & CFP10，純化後取不同體積之回收蛋白跑膠確認純度(圖 3b.)。
3. 標準品重組蛋白 ESAT6 & CFP10 多株抗體製備
將純化完成之 ESAT6 & CFP10 重組蛋白分別打入兩隻紐西蘭兔體內(編號 -K1,K2)，製備多株抗體；每次施打兔子前抽取部份血清，前後共施打 5 次，最後犧牲兔子抽取全部血清，將所有血清進行 ELISA 效能測試，確認多株抗體效價(圖 4)。

第二部分 重組蛋白 ESAT6 & CFP10 誘導之 IFN- γ 檢測套組

1. Anti human IFN- γ mAb/pAb 效能挑選
採購市售之 Anti human IFN- γ 抗體 mAb 及 pAb，進行測試及挑選，結果如圖 5。
2. Anti human IFN- γ mAb/pAb 磁性奈米粒子接合及效能測試
委請磁減量設備之製造商與技術專利擁有者 MagQu Co., Ltd. (磁量生技股份有限公司)執行，詳細報告如附件，截至撰寫報告前，已完成對 pAb 完成效能測試並繪製標準曲線 (圖 6)，結果最低可以偵測極限到 0.01ppb (10pg/ml)；mAb 仍依據原定計畫進度進行中。
3. Anti human IFN- γ ELISA 套組建構，測試實際檢體抗體檢測
將採購之 Anti human IFN- γ 抗體 mAb 及 pAb 建構成 sandwich ELISA kit，用 IFN- γ 標準品製作標準曲線 (圖 7a.)，與市售 KOMA IFN- γ ELISA kit 標準曲線 (圖 7b.) 進行比較。在相同測試條件之下，KOMA IFN- γ ELISA kit 的線性關係較好，不過在偵測靈敏度方面卻是以自行採購 mAb 及 pAb 搭配組成之 sandwich ELISA kit 較佳，可作為後續實驗與測試之用。將自行建構之 Anti human IFN- γ ELISA 套組測試實際檢體，卻發現由於檢體稀釋倍數過高無法有效從檢體中區分 positive、negative 兩者間的訊號 (圖 8)。
4. ESAT6/CFP10 誘導 IFN- γ 於 Anti human IFN- γ mAb/pAb 磁性奈米粒子之檢驗測試 QuantiFERON (QFT) 與磁減量(IMR)兩個平台再測試上有兩個略有不同的地方：其一、所使用的樣品量不同，磁減量所使用的樣品量為 QFT 的 1/50；其二、結果表現方式不同，QFT 的結果分為 positive、negative 及 indeterminate；磁減量(IMR)目前只分為有檢出 (磁量減少) 與 ND (磁量未減少)。截至報告撰寫前，已完成實際測試陽性檢體 9 支、陰性檢體 5 支和 2 支 indeterminate，共 16 支檢體。結果如表 2 所示，相較於 QFT 測試之結果(如表 3)，有 3 支樣本(T36、T78 及 T131)磁減量(IMR)結果與 QFT 不符，在樣品 T36、T78 及 T131 之結果，QFT 為 positive，磁檢為 ND；對照 TB PCR 之結果，T36 與 T78 以 PCR 方式皆

未檢出，T131 當初未進行 PCR 偵測；而 QFT 為 indeterminate 的 T16 及 T117，在磁量上 T16 為 ND，T117 為檢出。在未檢出部分，則 IMR 與 QTF 結果為一致。

第三部分 重組蛋白建構抗體檢測套組

1. ESAT6/CFP10 重組蛋白磁性奈米粒子接合及效能測試

本部份測試委請 MagQu Co., Ltd. (磁量生技股份有限公司)執行，依據計畫進度仍在執行中。

2. ESAT6/CFP10 ELISA 多株抗體檢測套組建構，測試實際檢體抗體

以 protein A 純化兔子血清之多株抗體，序列稀釋多株抗體製作其標準曲線 standard curve (圖 8)。另外以 ESAT6&CFP10 重組蛋白作為 coating；接合 HRP 之 protein A 為 detection reagent 與呈色系統，進行實際檢體測試。結果 ELISA 平台並無法明顯區分出 positive 與 negative，也就是說用 ELISA 無法有效偵測到血清中 ESAT6 或 CFP10 抗體是否存在 (圖 10)。

3. ESAT6/CFP10 磁性奈米粒子實際檢體抗體檢測

本部份測試依計畫進度仍在執行中。

伍、本年度已達成之成果

第一部分 結核病偵測標的選定

針對 *M. tuberculosis* H37RV 抗原區 (*esat6* 和 *lhp*) 所選殖的片段，單獨的 *lhp* 與 *esat6/lhp* 能正確的在 pET28 表現系統中表現，而單獨 *esat6* 卻不行 (結果未呈現)。實驗中 IPTG 誘導 ESAT6 表現的過程中，會影響到 *E. coli* BL21 的生長，使破菌後無法取得足夠濃度的蛋白，而 ESAT6/CFP10 重組蛋白則不會產生影響，若想純化 ESAT6 需要更換一個不受 ESAT6 影響的表現系統。

第二部分 重組蛋白多株抗體檢測套組與重組蛋白誘導之 IFN-r 套組建構

在計畫中我們針對「IFN-r」與「ESAT6/CFP10 抗體」為兩種檢測標的，分別利用 ELISA 與磁減量兩種檢測平台進行測試。

陸、討論

目前所獲得之結果討論如下：

一、ELISA 平台：

1. 在自行建構之 IFN-r ELISA 平台上以 IFN-r 標準品製作標準曲線，並確認 ELISA 平台的效能（圖 7）。
2. 建構 ESAT6/CFP10 抗體 ELISA 平台上以 protein A 純化之 ESAT6/CFP10 多株抗體為標準品製作標準曲線，並確認 ELISA 平台的效能（圖 9）。
3. 病人血清為 ESAT6/CFP10 抗體實際檢測樣品，病人血清經 ESAT6/CFP10 重組蛋白處理刺激後之血清為 IFN-r 實際檢測樣品。針對 ESAT6/CFP10 抗體或 IFN-r 的實際 ELISA 檢測中，可以發現實驗中兩個 ELISA 平台對於 positive 或 negative 的樣品無法區分出來（圖 8、10）。推測其可能的原因，可能是因為樣品的濃度，原本在 QFT 的檢測中所使用的血清僅為 2 倍稀釋，但因為樣品珍貴且計畫目前僅為探討磁減量可行性，所以將血清稀釋 100 倍使用，因此大大降低檢體的濃度使其低於 ELISA 平台的極限，導致無法區分出來 positive 與 negative 的樣品。

二、磁減量平台：

1. 已完成在 IFN-r 磁減量平台上以市售之 Anti human IFN-r pAb 去偵測 IFN-r，並以標準品建立其標準曲線（圖 6）；Anti human IFN-r mAb 仍依計畫進行中。目前以鍵結 IFN-r 多株抗體之奈米磁珠進行磁減量偵測時，發現 IFN-r 在 10pg/ml 時，IMR 是 0.7%，而 NTC 樣本為 0.68%±0.01%，所以我們可以得知磁減量平台的最低偵測極限在 10pg/ml；較於 QuantiFERON 的最低偵測極限 75pg/ml 來的更為靈敏。從結果分析（表 2、3）得知，9 支 positive 樣本中有 3 支未能被磁減量檢出，分別為 T36、T78 與 T131；對照 TB PCR 之結果，T36 與 T78 以 PCR 方式皆未檢出，T131 當初未進行 PCR 偵測；進一步分析與 QFT 之間的關係，發現似乎磁減量的偵測極限要高於 TB-Ag :0.58（T131-QFT），Nil 要低於 2.12（T36-QFT），磁減量才能有效判讀；另外兩支 indeterminate 的 T16 及 T117，剛好一支檢出一支未檢出，受限於目前所得到的數據，僅能概略分析磁減量與 QuantiFERON 結果的相關性，如果要更明確的關係需要後續更多的數據，但可以確定需要針對 QFT 中不同數值的 TB-Ag、Nil 分析，找出與磁減量之間的關係。但由於本次進行 IMR 的樣品濃度較 QFT 低 50 倍，因此 IMR 的檢測靈敏度很容易大幅提升。
2. 在 ESAT6/CFP10 抗體磁減量平台上以純化之 ESAT6/CFP10 重組蛋白去偵測抗體，並以 protein A 純化之多株抗體建立其標準曲線，目前仍在進行中。

柒、結論與建議

第一部分：結核病偵測標的選定

CFP10 與 ESAT6 的重組蛋白可以由 *E. coli* BL21 進行表現並加以純化，但如果要單獨表現 *esat6*，需要更換表現系統。將 CFP10 與 ESAT6 分別表現與製備抗體，可以減少兩者間的干擾，並且透過兩種抗體進行重覆確認，可以增加檢測的準確度。

第二部分：重組蛋白多株抗體檢測套組與重組蛋白誘導之 IFN-r 套組建構

本計畫所建立之 ELISA 平台與磁減量平台相互比較，結果 ELISA 平台無法區分 positive 與 negative 樣品，而磁減量平台可以，可見磁減量平台能偵測到濃度更為低的 IFN-r；若使用與 QFT 平台相同的檢體量，磁減量平台偵測的樣本濃度可以再提高 50 倍，如此便能獲得兩個優勢：

1. 增加檢出率：樣本濃度提高，訊號跟著提高，如此一來便可以大幅增加磁減量平台對於陽性樣品與陰性樣品的區分能力。
2. 縮短時間：
 - 2.1 QFT 平台中必須以 CFP10 與 ESAT6 刺激 16 小時之後才偵測其血清中的 IFN-r；但由於磁減量平台的靈敏度較高，所以在 CFP10 與 ESAT6 刺激的過程中只要產生足夠的 IFN-r 造成足夠的“磁減量- $\phi_{\text{INF-}\gamma}$ ”，便可以被檢測出來，有機會減少刺激所需要的時間。
 - 2.2 以檢測實務來看，經過刺激之血清，目前是以 ELISA 方式進行偵測；ELISA 方式必須由技術人員操作，經過反應、沖洗、呈色等步驟，再加以判讀。而磁減量平台僅需加入樣本，就能從儀器得到讀值，大幅減少操作所需費之人力、時間與失誤。
3. 增加 IFN-r 濃度：可以考慮減少 medium 的量，等於直接提高細胞產生的 IFN-r 濃度，或許還能提早偵測到 IFN-r 濃度上升。
4. 目前磁減量平台現在的偵測時間為求獲得完整的磁量變化曲線，必須要偵測到 300 分鐘以上，希望未來透過發展 multiple detection system，配合即時偵測持續監控，只要一到達閾值便可以確認，可大幅減少偵測時間。
5. 因為目前所使用之抗體（一般商業化的抗體）並未最佳化，只是針對磁減量檢測平台測試可行性。未來如要進行商品化，必須尋找更合適的抗體，透過抗體的最佳化（提高抗體專一性/特異性），將有機會提高偵測極限或縮短偵測時間。
6. 針對 IFN-r 的檢測屬於間接法，原希望能發展出以檢測 ESAT6/CFP10 抗體的直接法來進行，如此一來可以免去 IFN-r 已經因其他感染而提高或者是個體免疫力差別的情況。但由於計畫開始時間之緣故，研究人員已盡力加快研究速度，但抗體之生產需要一定之時間，無法加速，造成 ESAT6/CFP10 磁減量平台偵測必須略為延後，最後卻又必須提早 2 個月繳交報告，受限於時間關係，還未能獲得到這一部分的結果。
7. 本計畫主要目標在 IMR 方法學的建立，所使用之抗體（一般商業化的抗體）並未最佳化，只是針對磁減量檢測平台測試可行性。由於計畫開始時間延後，且又提前結案，有部份計畫內容仍在進行中，目前尚無法提供 IMR 與 QFT 完整的比較結果。將來若要落實商品化，仍需藉由生策會的整合，進行大規模的臨床測試，並與其他子計畫發展的方法進行比較。

捌、計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

本研究藉由免疫磁減量技術的高靈敏度、高專一性及低干擾性的方法學特性，對病人單核球釋出之大量INF-r進行檢測，發現有機會建構出更快速、方便、準確的結核病篩檢平台。且磁減量平台為國人自行開發，若能陸續開發運用於此平台之檢測試劑，將能促成我國檢驗試劑產業跨入國際舞台，並使此平台更趨成熟，促進我國生醫產業之發展。

玖、參考文獻

1. Kotitz R, Weitschies W, Trahms L, Brewer W, Semmler W, Magn J, Mater M. : Determination of the binding reaction between avidin and biotin by relaxation measurements of magnetic nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.* 1999; 194:62.
2. Enpuku K, Minotani T, Gima T, Kuroki Y, Itoh Y, Yamashita M, Katakura Y, Kuhara S.: Detection of Magnetic Nanoparticles with Superconducting Quantum Interference Device (SQUID) Magnetometer and Application to Immunoassays. *Jpn. J. Appl. Phys.* 1999; 38: L1102
3. Horng HE, Yang SY, Huang YW, Jiang WQ, Hong CY, Yang HC. Nanomagnetic Particles for SQUID-Based Magnetically Labeled Immunoassay. *IEEE Trans. Appl. Supercond.* 2005; 15: 668
4. Hong CY, Wu CC, Chiu YC, Yang SY, Horng HE, Yang HC. :Magnetic Susceptibility Reduction Method for Magnetically Labeled Immunoassay. *Appl.Phys. Lett.* 2006; 99, 212512-1-1212512-3.
5. Yang SY, Jian ZF, Horng HE, Hong CY, Yang HC, Wu CC, Lee YH.: Dual immobilization and magnetic manipulation of magnetic nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.*, 2008; 320: 2688.
6. Wu CC, Lin LY, Lin LC, Huang HC, Liu YB, Tsai MC, et al.: Bio-functionalized magnetic nanoparticles for in-vitro labeling and in-vivo locating specific bio-molecules. *Appl. Phys. Lett.*, 2008; 92: 142504.
7. Yang HC, Horng HE, Yang SY, Liao SH.: Advances in biomagnetic research using high-Tc superconducting quantum interference devices. *Supercond. Sci. Technol.*, 2009; 22: 93001.
8. Liao SH, Yang HC, Horng HE, Yang SY.: Characterization of magnetic nanoparticles as contrast agents in magnetic resonance imaging using high-Tc superconducting quantum interference devices in microtesla magnetic fields. *Supercond. Sci. Technol.* 2009; 22: 025003.
9. Yang SY, Jian ZF, Chieh JJ, Horng HE, Yang HC, and Hong CY.:Wash-free, antibody-assisted magnetoreduction assays on orchid viruses. *J. Virol. Methods*, 2008; 149: 334.
10. Yang SY, Chieh JJ, Wang WC, Yu CY, Lan CB, Chen JH, Horng HE, Hong CY, Yang HC.: Ultra-highly sensitive and wash-free bio-detections for H5N1 virus via magnetoreduction assays. *J.Virol. Methods* 2008; 153: 250.
11. Yang SY, Lan CB, Chen CH, Horng HE, Hong CY, Yang HC, Lai YK, Lin YH, Teng KS.: Independency of Fe ions in hemoglobin on immunomagnetic reduction assay. *J. Magn. Magn. Mater.* 2009; 321: 3266.
12. Mahon CR, George M. Textbook of Diagnostic Microbiology. Huebner RE, Schein MF, Bass JB.: The tuberculin skin test. *Clin IFNect Dis* 1993; 17: 968-975.
13. Huebner RE, Schein MF, Bass JB.: The tuberculin skin test. *Clin IFNect Dis* 1993; 17: 968-975.
14. Chaparas SD, Maloney CJ, Hedrick SR.: Specificity of tuberculins and antigens from various species of mycobacteria. *Am Rev Respir Dis* 1970; 101: 74-83.
15. Dalovisio JR, Montenegro-James S, Kemmerly SA, Genre CF, Chambers R, Greer D, Pankey GA, Failla DM, Haydel KG, Hutchinson L.: Comparison of the amplified Mycobacterium tuberculosis direct test, Amplicor MTB PCR, and IS6110-PCR for detection of MTB in respiratory specimens. *Clin IFNect Dis* 1996; 23: 1099-1106.
16. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al.: Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature.* 1998; 393: 537-44.

17. Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, Singh DC, Stover CK.: Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. *J Bacteriol* 1996; 178: 1274-82.
18. Harboe M, Oettinger T, Wiker HG, Rosenkrands I, Andersen P.: Evidence for occurrence of the ESAT-6 protein in *Mycobacterium tuberculosis* and virulent *Mycobacterium bovis* and for its absence in *Mycobacterium bovis* BCG. *IFNect Immun* 1996; 40: 908-912.
19. Berthet F, Rasmussen P, Rosenkrands I, Andersen P and Gicquel B. A *Mycobacterium tuberculosis* operon encoding ESAT-6 and a novel low-molecular-mass culture filtrate protein (CFP-10). *Microbiology* 144, 3195-3203(1998)
20. Mustafa AS, Amoudy HA, Wiker HG, Abal AT, Ravin P, Oftung F, Andersen P.: Comparison of antigen-specific T cell responses of tuberculosis patients using complex or single antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. *Scand J Immunol* 1998; 48: 535-543.
21. Colangeli R, Spencer JS, Bifani P, Williams A, Lyashchenko K, Keen MA, Hill PJ, Belisle J, Gennaro ML.: MTSA-10, the product of the Rv3874 gene of *Mycobacterium tuberculosis*, elicits tuberculosis-specific, delayed-type hypersensitivity in guinea pigs *IFNect Immun* 2000;990-993.
22. Pittius NCG, Gamiedien J, Hide W, Brown GD, Siezen RJ and Beyers AD.: The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G+C Gram-positive bacteria. *Genome Biology* 2001; 2:10,0044.1–0044.18.
23. Lewis KN, Liao R, Guinn KM, Hickey MJ, Smith S, Behr MA, Sherman DR.: Deletion of RD1 from *Mycobacterium tuberculosis* Mimics Bacille Calmette-Guérin Attenuation. *J IFNect Dis.* 2003;187: 117–123.
24. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM.: Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet.* 2000; 23: 356, 1048-9.
25. A.M. Attallah; C.A. Abdel Malaka; H. Ismaila; A.H. El-Saggana; M.M. Omrana; A.A. Tablla.: Rapid and Simple Detection of a *Mycobacterium tuberculosis* Circulating Antigen in Serum Using Dot-ELISA for Field Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *J. Immunoassay Immunochemistry*, 2003; 24:1, 73-87.
26. Nabeshima S, Murata M, Kashiwagi K, Fujita M, Furusyo N, Hayashi J.: Serum antibody response to tuberculosis-associated glycolipid antigen after BCG vaccination in adults. *J IFNect Chemother.* 2005; 11:256-8.
27. Gao MQ, Chu NH, Wang HY, et al.: The clinical significance of serum tuberculosis specific antigen antibody in the diagnosis of tuberculosis. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* 2007; 30:918-20.
28. Murthy MK, Parasa RR, Deenadayalan A, Sharma P, Raja A.: Evaluation of the diagnostic potential of region of deletion-1-encoded antigen culture filtrate protein-10 in pulmonary tuberculosis. *Diagn Microbiol IFNect Dis.* 2007; 59:295-302.

拾、圖表

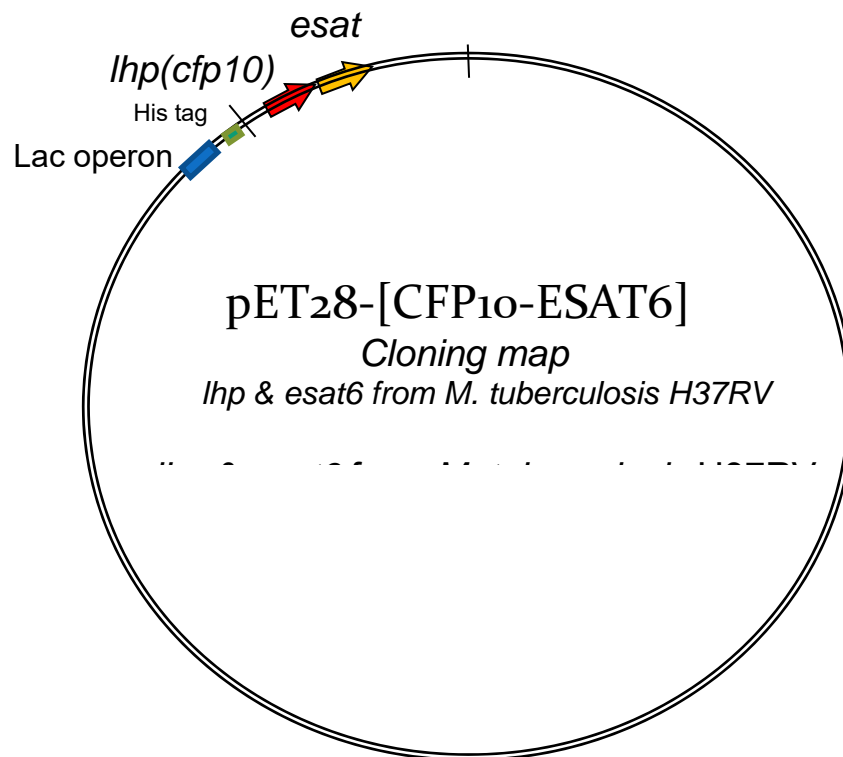


圖 1. *lhp* & *esat6* Cloning map

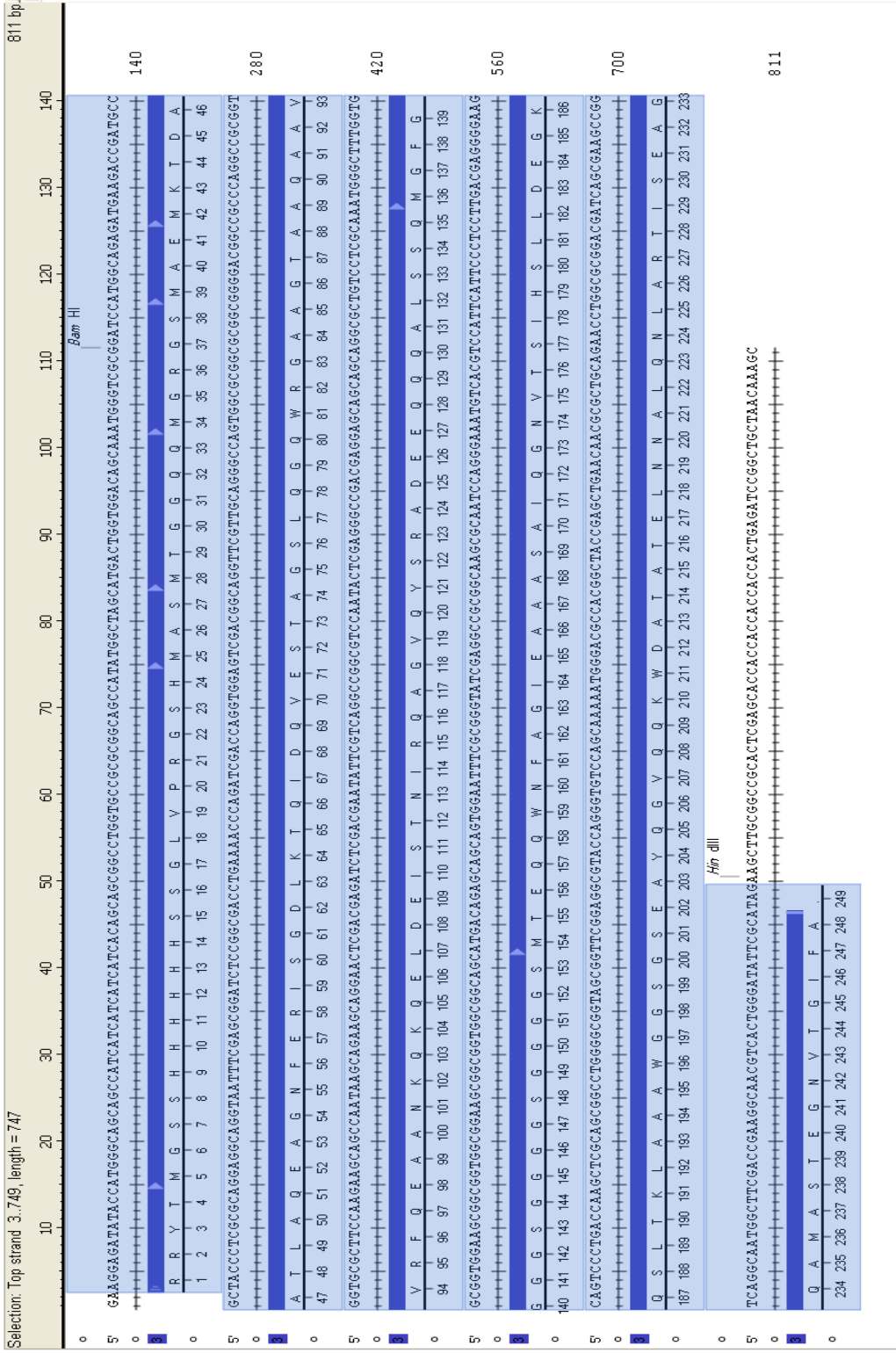
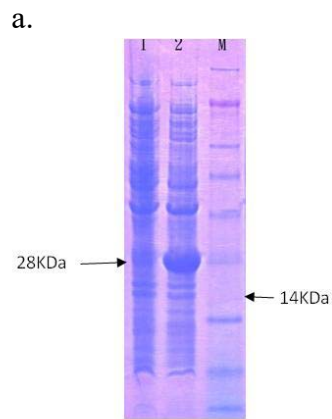
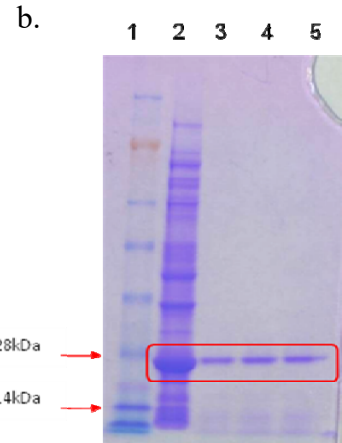


圖 2. *lhp* & *esat6* 定序確認核酸序列與表現蛋白序列



lane 1 : IPTG誘導前
lane 2 : IPTG誘導後
M : Marker

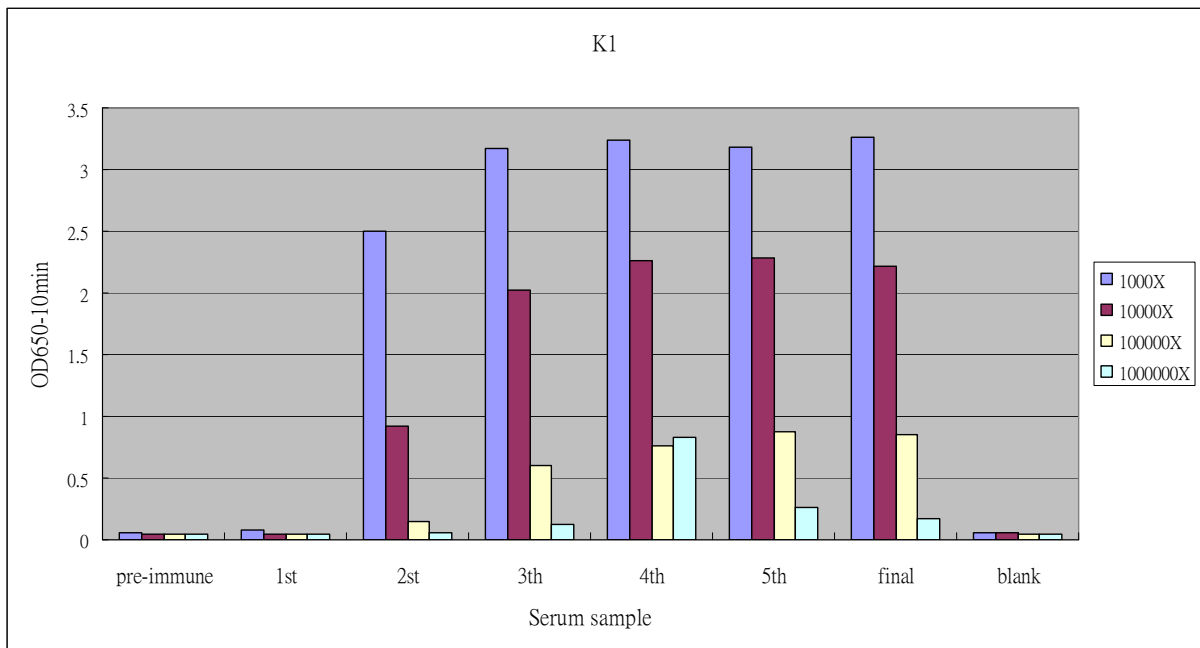


lane 1 : Marker
lane 2 : Induced *E. coli* lysate
lane 3 : Elution 10ul
lane 4 : Elution 15ul
lane 5 : Elution 20ul

圖 3. ESAT6 & CFP10 蛋白誘導表現與純化

- a. 構築完成之 pET28 於 *E. coli* BL21 內，IPTG 誘導前後之結果
- b. IPTG 誘導後之 *E. coli* lysate 經 His-tag 純化後之結果

a.



b.

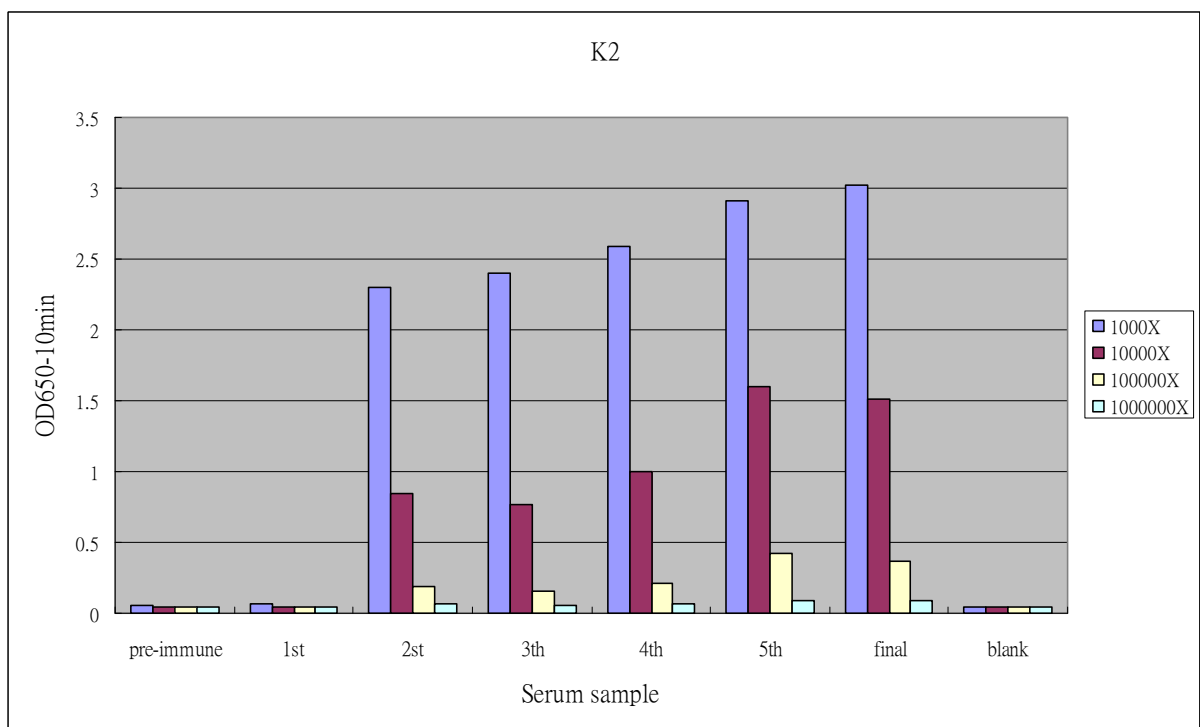


圖 4. 多株抗體效價測試

a. 兔子編號 K1

b. 兔子編號 K2

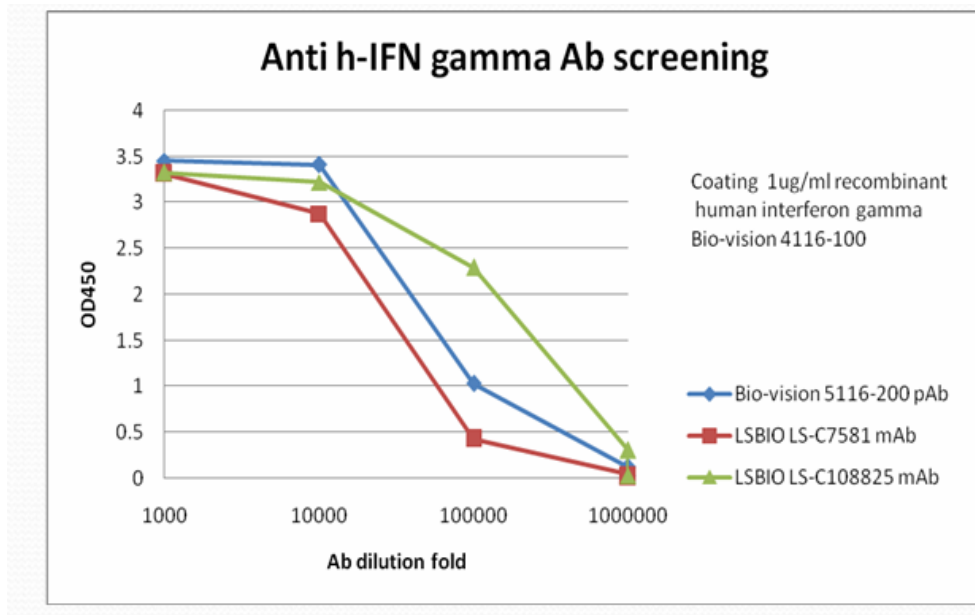


圖 5. Anti human IFN-r mAb/pAb 效能挑選

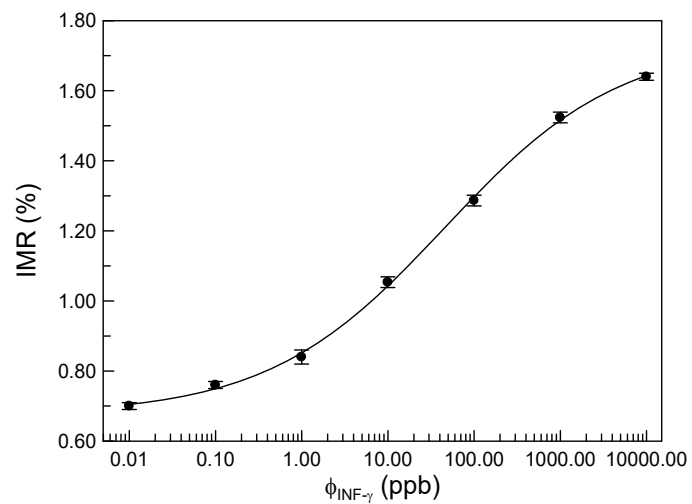
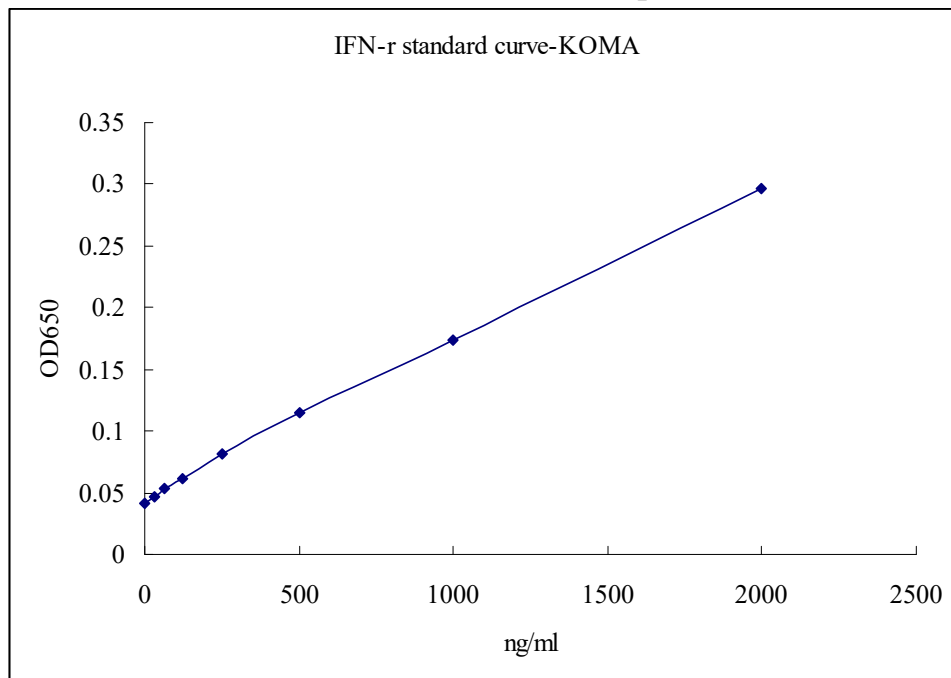


圖 6. Anti human IFN-r pAb 磁性奈米粒子效能測試

圖 7. IFN-r ELISA kit 標準曲線

a. 採購 Anti human IFN-r 抗體 mAb 及 pAb ELISA



b. KOMA IFN-r ELISA kit

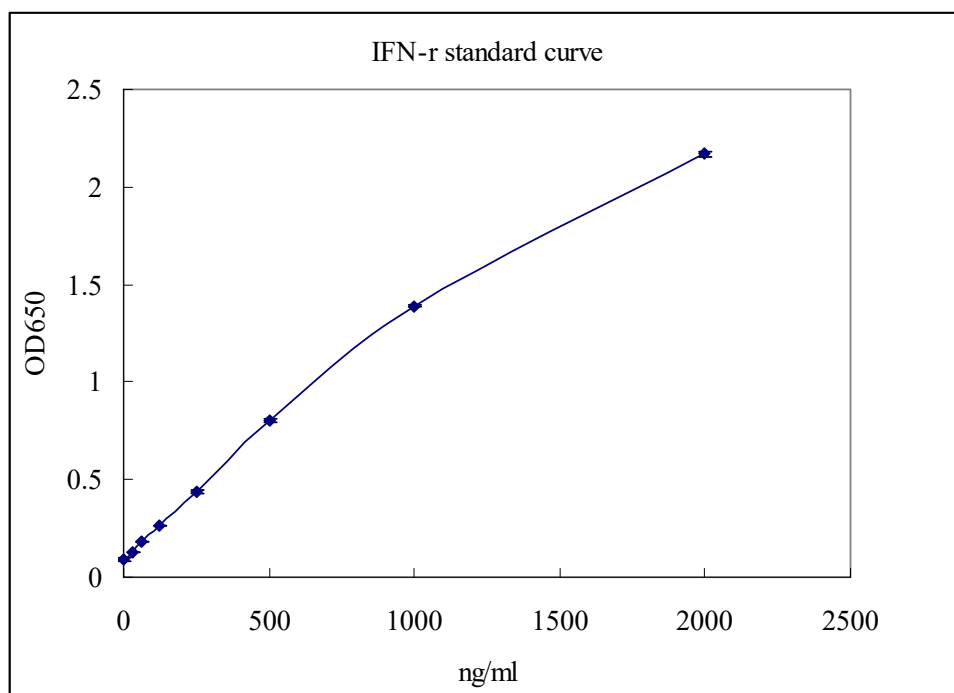


圖 8. 建構完成之 Anti human IFN-r ELISA 套組測試檢體

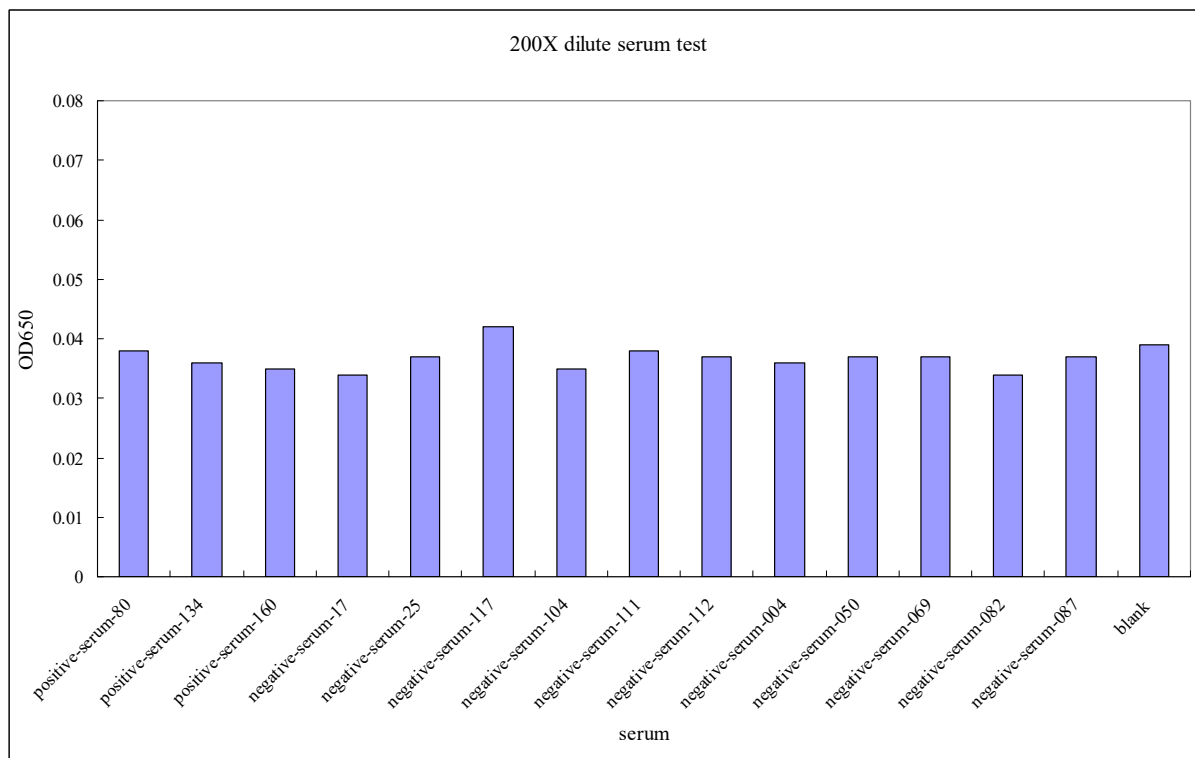


圖 9. 多株抗體序列稀釋測量 ESAT6/CFP10 重組蛋白之標準曲線

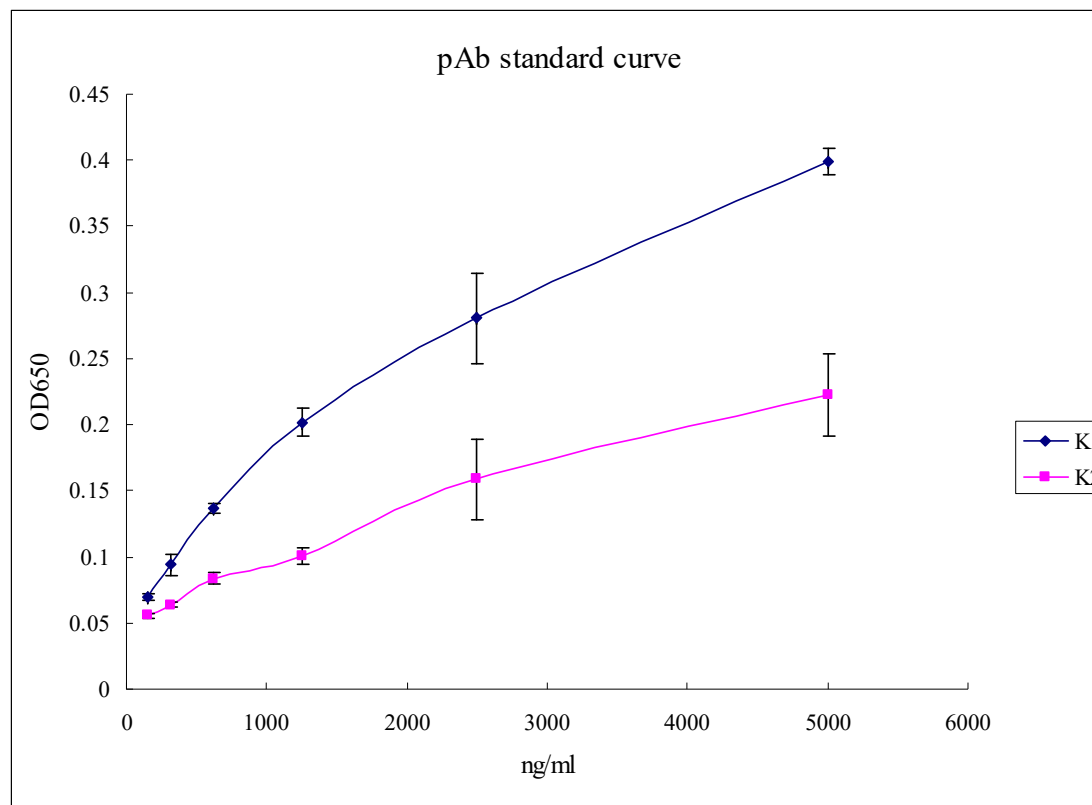


圖 10. 以 ESAT6/CFP10 重組蛋白檢測檢體中 ESAT6 或 CFP10 抗體

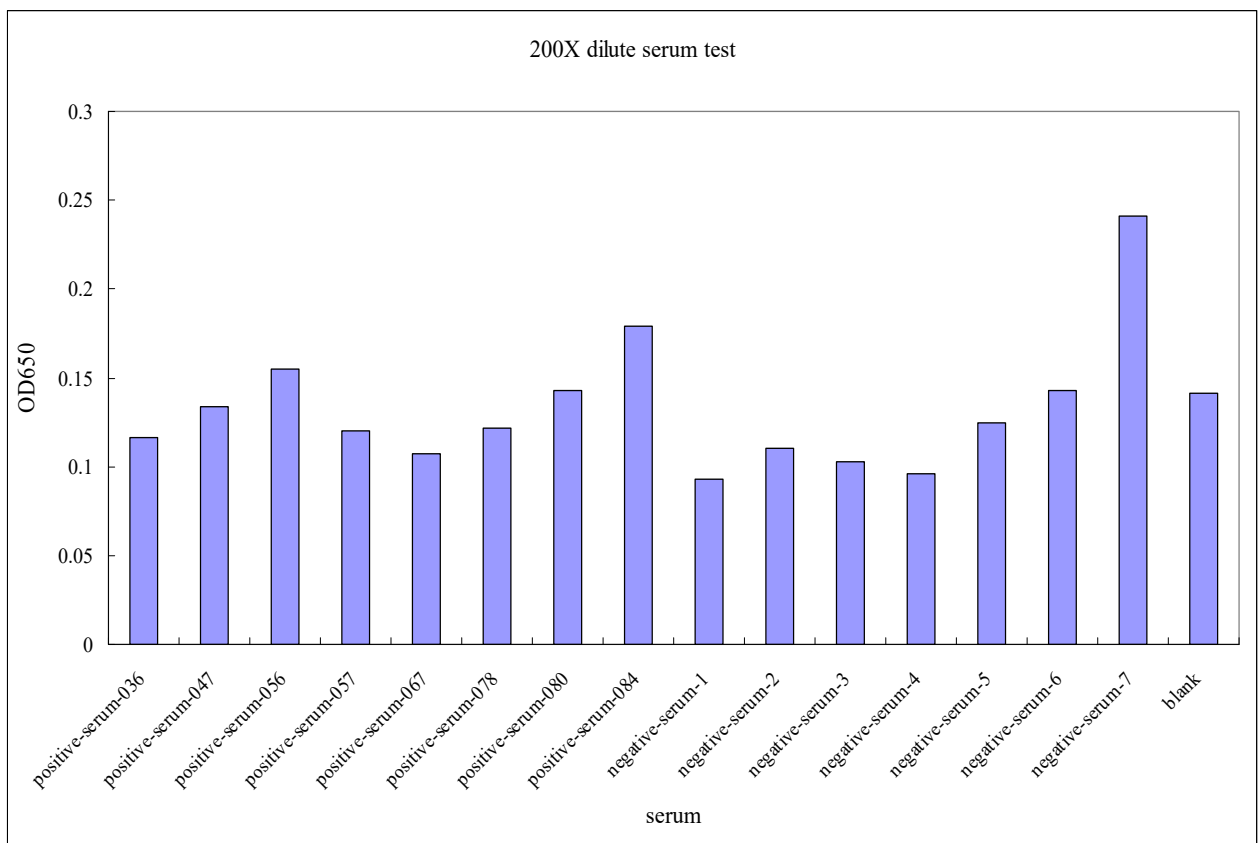


表 1. 引子列表

引子	長度	用途
CFP10-F	27	Clone <i>lhp</i>
CFP10-R	27	Clone <i>lhp</i>
ESAT6-F	27	Clone <i>esat6</i>
ESAT6-R	30	Clone <i>esat6</i>
CFP10-F-r	26	Clone ESAT6 & CFP10 重組蛋白
CFP10-R-r	71	Clone ESAT6 & CFP10 重組蛋白
ESAT6-F-r	73	Clone ESAT6 & CFP10 重組蛋白
ESAT6-R-r	25	Clone ESAT6 & CFP10 重組蛋白

表 2. 檢體之 IFN-r 於 Anti human IFN-r pAb 磁性奈米粒子之測試(三重覆)

Sample No. (x50 ⁻¹)	Mean value of $\phi_{\text{INF-}\gamma}$ (ppb)	Standard deviation of $\phi_{\text{INF-}\gamma}$ (ppb)	CV (%)
T16	ND	-	-
T36	ND	-	-
T50	ND	-	-
T67	0.347	0.054	15.7
T69	ND	-	-
T78	ND	-	-
T80	0.526	0.072	13.7
T84	0.276	0.047	16.9
T90	ND	-	-
T111	ND	-	-
T112	ND	-	-
T117	0.021	0.009	43.1
T121	0.105	0.049	46.8
T131	ND	-	-
T134	0.121	0.027	22.6
T160	0.215	0.039	18.4

表 3. 檢體之 QuantiFERON 結果

Sample No.	Nil	TB-Ag	Mitogen	QFT Result
T16	0.31	0.44	0.46	IND.
T36	2.12	6.83	2.56	POSITIVE
T50	0.38	0.64	1.61	Neg.
T67	0.13	3.14	0.31	POSITIVE
T69	0.08	0.15	0.66	Neg.
T78	0.07	1.25	0.13	POSITIVE
T80	0.09	8.36	1.51	POSITIVE
T84	0.2	3.62	0.37	POSITIVE
T90	0.13	0.11	5.87	Neg.
T111	0.06	0.07	> 10	NEGATIVE
T112	0.29	0.19	9.81	NEGATIVE
T117	0.26	0.41	0.39	IND.
T121	0.05	0.64	9.15	POSITIVE
T131	0.09	0.58	> 10	POSITIVE
T134	0.06	> 10	> 10	POSITIVE
T160	0.07	> 10	> 10	POSITIVE

子計畫編號： 2-2
子計畫名稱： 開發抗結核複方製劑及應用代謝
酵素抑制劑研製低肝毒性之
Isoniazid、Rifampin、Pyrazinamide
抗結核藥物
主 持 人： 鮑力恒

摘要

為解決第一線抗結核藥物之肝副作用及服藥順性不佳等可導致結核防治上之困難，本計畫係由四個子計畫之整合，由不同方向之研究，擬提供解決現存之問題。計畫一是以增加服藥順服性進行新穎四合一抗結核藥物之開發，本年度已開發出可以徹底解決四合一複方製劑中 rifampicin 之溶離問題，並進行動物試驗評估，現正進行約 40 人次之人體試驗，預計 12 月中完成相關分析，預期可如期開發出目前國內市場仍缺的四合一抗結核病第一線藥物。計畫二是開發無肝副作用之 isoniazid(INH)製劑：以開發出低副作用之 INH 劑型於健康受試者進行人體試驗藥動學之評估，結果顯示同時併用 360 mg 之 HUCHE033 及 110 mg 之 HUCHE010，並不會影響 INH/RIF 原型藥之吸收，但在體內可能有抑制 amidase 使得其毒性代謝物減少，並有加乘的作用；另單獨或同時併用 360 mg 之 HUCHE033 或 110 mg 之 HUCHE010 對 chlorzoxazone(CZX)及其經 CYP2E1 之代謝物 6-OH CZX 血中濃度及各項藥動學參數影響皆不顯著。計畫三為開發無肝副作用之 pyrazinamide(PZA)製劑：PZA 併服不併服 PZA 代謝酵素 amidase 抑制劑 HUCHE033 於健康受試者體內試驗之結果顯示，併服 HUCHE033 對 PZA 於健康受試者體內的藥物動力學影響並不顯著，但能有效降低 PZA 毒性代謝物 5-OH-PA(抑制率約 39%)；另亦進行分析 167 位 TB 患者基因檢體，完成 5 種 XO SNP 不同基因型與 PZA 藥物肝毒性風險試驗，結果顯示具 rs1884725 與 rs2295475 突變型對偶基因患者較野生型具較高 PZA 肝毒性風險(Odds ratio 各是 5.372 ($p = 0.002$)、12.964 ($p = 0.000$))，這是目前文獻未提及過新發現。計畫四則是以代謝酵素基因型預防 isoniazid 及 rifampin 之副作用發生之研究：結合目前為止累積之研究成果發現，若帶有 NAT2 rs1799931 及 rs1961456 任兩個 Allele 變異之高風險族群發生藥物肝毒性之風險比為低風險組之 4.1 倍，並佔全體結核病患之 26%，顯示在國人中約有 1/4 以上的結核病患者係屬於服用抗結核藥物易引發肝毒性的高風險族群，而在高風險族群中肝毒性的發生率為 36%，顯著高於低風險患者之 12%，本年度執行前瞻性試驗納入 59 名結核病患之研究成果亦證實預測結果具高度一致性。結果顯示對使用含 INH 藥物之病人，應篩檢高肝副作用風險之代表性基因組合 rs1961456 及 rs1799931，若確定結核病患屬高肝副作用風險病患則應密切觀察其肝功能變化。

關鍵字：pyrazinamide 代謝物、肝毒性、定量肝功能、固定劑量複合製劑、服藥順從性、生體可用率

Abstract

Four projects are integrated in the present study, each of different prospective, in order to overcome the currently existing difficulties on the management of tuberculosis, for instance, the first line anti-TB drugs induced hepatic side effects and poor compliance of medication, etc.

Project 1 is the research and development of new combo of anti-TB drugs for improving drug compliancy. In this year, the problem on the dissolution of rifampin (RIF) has been completely resolved from the latest animal study assessment. A 40 subjects clinical trial is currently ongoing and the analysis and report will be completed by early December, 2011. The development of this long-awaited new 4 in 1 combo of anti-TB drug in Taiwan market is expected to be on schedule. Project 2 is the development of new dosage form of isoniazid (INH) without hepatic adverse reaction and its assessment of pharmacokinetics in health volunteers. The results indicate that coadministration with 360 mg of HUCHE033 and 110 mg of HUCHE010 in RIF/INH treatment does not affect the absorption of parent drug isoniazid. Also, the toxic metabolites may be reduced via the inhibition of amidase *in vivo*, and with synergistic effects when both administered. Moreover, there was no significant change in the serum concentration and pharmacokinetic parameters of chlorzoxazone (CZX) and its CYP2E1 metabolite 6-OH CZX after HUCHE033 or HUCHE010 coadministration. Project 3 is the development of new dosage form of pyrazinamide (PZA) without hepatic adverse reaction. A study on the administration of PZA with or without the amidase inhibitor HUCHE033 was conducted and showed no significant influence on the pharmacokinetics of PZA when coadministered with HUCHE033, but was effective in reducing the toxic metabolite 5-OH-PA (with 39% of inhibition rate). On the other hand, 5 genotypic polymorphisms of Xanthine oxidase (XO) in correlation with PZA induced hepatotoxicity was analyzed in 167 TB patients. Results suggest that subjects who are variants of rs1884725 and rs2295475 have higher risks of developing hepatotoxicity, the odds ratio is 5.372 ($p = 0.002$) and 12.964 ($p = 0.000$), respectively. Project 4 is the research of genetic polymorphisms of metabolic enzymes in prevention of isoniazid and rifampin induced hepatic side effects. Based on previously discovered high risk genotypes and their combinations, a prospective study was conducted by determining the high-risk genotypes of patients on the recruitment, and closely observed the anti-TB drug induced hepatotoxicity during the treatment schedule, in order to verify the predicted outcomes of high-risk genotypes. The results of the current project suggest that combination of NAT2 SNPs, specifically rs1961456 and rs1799931, maybe a representative genetic marker for patients who have higher risks for developing anti-TB drug induced hepatotoxicity.

Keywords : fixed-dose combinations 、 tuberculosis 、 bioavailability

壹、 前言

2.2.1 新穎抗結核病複方製劑之研究與開發

短程化學治療在治療肺結核上有著高度的效力，但由於治療中所包含藥物種類多、劑量不同、服用時間也不一樣，加上需要長期治療等因素，使得病患服藥順從性（compliance）成為決定結核病治療成功與否的關鍵。不穩定的治療不僅會使得治療失敗，更會導致病患具有慢性傳染力來延長傳染他人和治療時間，甚至於產生抗藥性結核菌株。有鑑於此，近年來世界衛生組織及國際抗癆暨肺病組織（International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, IUATLD）大力倡導的直接監督短程治療¹（Directly Observed Treatment-Short course, DOTS）可以提供作為在肺結核診斷、藥物提供、個案管理服務的合理應用。同時世界衛生組織也推薦固定劑量複合製劑（Fixed-dose combinations, FDCs）的規劃，來促進理想的肺結核藥物治療，利用固定劑量複合製劑，可以簡化醫師的處方和病患的藥物攝取；藉由預防單一治療與促進持續攝取適當劑量的抗結核藥，將有助於預防抗藥性的出現^{2,3,4}。

於結核病治療的主要目的為治癒每個患者，來減少肺結核的死亡率與發病率。藉由快速且有效地治癒患者，以減少結核菌的傳播與抗藥性的產生；假使短期治療能在理想狀況下進行，則上述的目標將可達成，但實際上卻有著許多難以克服的挑戰與障礙來阻礙；另一個對結核病防治的重大威脅是全球性的多重抗藥性結核病（multidrug-resistant TB, MDRTB）興起，多重抗藥性結核病是指對於兩個以上的第一線抗結核藥物，像是 Rifampicin、Isoniazid 有抗藥性的結核分枝桿菌所引起的肺結核^{5,6}；多重抗藥性結核病與治療效果不佳有密切關係，尤其是單一治療，或是在藥物治療前幾個月不按時用藥的情形下更易引起。病患缺乏對於治療的順從性，特別是斷斷續續的治療與無法維持多重藥物的治療方式，往往會導致在這類患者身上的結核分枝桿菌選擇抗藥性變異。

而現今對於結核病短期治療的建議是：前兩個月密集服用一個由三種（針對小孩以及痰液抹片呈陰性反應或是有其他肺部疾病的成人）或是四種（痰液抹片呈陽性反應的成人）必要的抗結核藥物複合製劑，接著持續服用二種藥物四到六個月；至於這些抗結核藥物的建議劑量與給藥頻率請見表a¹、表b^{9,10}。

以往病人採取傳統單一藥物處方，在治療密集期通常需要一日攝取超過十顆錠劑，而固定劑量複合製劑則需一日攝取三或四顆錠劑；兩者一比較，患者較偏好固定劑量複合製劑也有較佳的治療順從性。關於固定劑量複合製劑的重要觀點是減少給予個別藥物劑量過低的風險，因為治療濃度不足可能會導致治療失敗與抗藥性；而藉由減少給予個別藥物劑量過高的風險，來消除與劑量有關的副作用。近年來多重抗藥性結核病的出現已成為全球現象，也給未來結核病控制帶來重大隱憂^{7,8}，因此世界衛生組織對於多重抗藥性結核病提出三種解決方案⁶：

- (1) 以短程化學治療為基礎徹底推動良好的肺結核控制。
- (2) 改善藥物耐受性(susceptibility)試驗與服藥監督。
- (3) 在仔細評估藥品花費、治療效力與可行性後，再加入第二線藥物。

而第一個方案成敗與直接監督短程治療（DOTS）有緊密關係，這也是防治多重抗藥性結核病（MDRTB）發生的首要之務，惟有在切實執行直接監督短程治療（DOTS）的情況下，固定劑量複合製劑（FDCs）的效益才能發揮到最好，進而杜絕抗藥性結核病的發生。

Isoniazid 是個強效殺菌藥，主要是殺死具有活性複製能力的結核分枝桿菌，其可快速降低結核分枝桿菌數量和消弭傳染力；至於 Rifampicin 不但是有效的殺菌藥之外，而且可使結核分枝桿菌無法繁殖，如此一來便可有效地殺死慢性繁殖的結核分枝桿菌。

在前兩個月密集治療後病菌可能會有高度改變的機率，若是給與上述兩種藥物（Rifampicin、Isoniazid）與具有降低結核分枝桿菌活性作用的 Pyrazinamide，將使治療後再復發的機率驟降；Ethambutol 或是 Streptomycin 通常是在對於 Rifampicin 或是 Isoniazid 有不明抗藥性時添加，特別是在剛診斷出痰液抹片呈陰性反應的結核病患來給藥，而之後的持續治療往往給予 Rifampicin、Isoniazid 或是 Ethambutol、Isoniazid 兩種藥品。如果發生再次治療即表示患者有過一個月以上的治病療程，意味著有較大的抗藥性風險，所以在治療初期前三個月需用 Rifampicin、Isoniazid、Ethambutol、Pyrazinamide 四種藥品，並且在前二個月加上 Streptomycin，在治療初期三個月之後以 Rifampicin、Isoniazid、Ethambutol 持續治療五個月；至於痰液抹片呈陰性反應或是有其他肺部疾病的成人通常是在治療密集期使用 Rifampicin、Isoniazid、Pyrazinamide 三種藥物。

自從在1994年^{2,3}，世界衛生組織及國際抗癆暨肺病組織基於採用固定劑量複合製劑（FDCs）可以簡化藥物的處方和攝取，將有助於治療順從性的提升與預防抗藥性出現的正當理由，來建議使用固定劑量複合製劑來治療結核病⁴。世界衛生組織於1999年將既有的2-drug FDCs（Rifampicin + Isoniazid）與3-drug FDCs（Rifampicin + Isoniazid + Pyrazinamide）更新成每日使用的4-drug FDCs（Rifampicin + Isoniazid + Ethambutol + Pyrazinamide）；完整的固定劑量複合製劑治療方式是於治療初期二個月用4-drug FDCs 接著以 2-drug FDCs 持續治療四到六個月，但是在復發性的結核病患則採取 3-drug FDCs 持續治療。

關於以固定劑量複合製劑（FDCs）為主是否與散裝藥品在治療上具同等治療效力的問題，需用特定的臨床試驗來證實：首先固定劑量複合製劑（FDCs）需要和同劑量的散裝藥品，在人體試驗有生物相等性；再者，有鑑於固定劑量複合製劑的劑量投與是固定的，因此證明在劑量投與和使用散裝藥品的治療上無顯著不同，所以世界衛生組織建議的固定劑量複合製劑（FDCs）優點是針對大範圍的體重來設計供給適切的內含物藥量，藉以改變每日所需服用的錠劑數^{9,10}；如：表一¹、表二^{9,10}。在美國的研究指出服用 3-drug FDCs 的病患比服用單一藥物的病患較快轉變為痰液抹片呈陰性反應^{11,12}，但在新加坡的研究卻顯示^{13,14}，儘管在製備固定劑量複合製劑（FDCs）有良好的生體可用率，追蹤接受 3-drug FDCs 治療後五年的患者發現有較高的復發率，而此發現促使國際抗癆暨肺病組織的臨床試驗工作，比較 4-drug FDCs 與傳統單一藥物處方的臨床試驗計畫的產生¹⁵。

雖然世界衛生組織推薦 4-drug FDCs 作為促使抗結核治療的利器，但是截至目前為止，FDCs 藥物對於結核病的治癒與盛行率之改善尚無顯著成效，造成此結果的原因除了考量病人的順從性之外，另外就是 FDCs 藥物在製劑上所遇到的困難，例如：符合溶離度試驗的固定劑量複合製劑並不一定能達到 Rifampicin 的生體可用率，即便是從製藥過程未達標準的藥廠所出產的單一藥物處方，也往往無法提供適當的生體可用率，推測這個製劑問題與藥廠製藥過程是否符合標準有關¹⁶；因此在1997年世界衛生組織建立起固定劑量複合製劑（FDCs）的研究中提及確定品質的議題¹⁷，而固定劑量複合製劑生體可用率的測定與由 HPLC (high-performance liquid chromatography) 來篩選 Rifampicin 品質的流程已建構^{18,19}，並經過兩個針對固定劑量複合製劑品管的實驗室認證^{20,21}。

在執行結核病的固定劑量複合製劑治療準備需考量下述必要的步驟²²：

1. 所有程序的相關資料需依據最新治療模式來修改，包括程序手冊、治療指引、治療卡與處方囑咐格式等等。
2. 醫療小組成員不論層級均需接受以最新程序手冊為主的訓練。
3. 在大規模使用固定劑量複合製劑治療之前，需有計畫地將散裝藥品消耗，以免造成經濟上的浪費。

4. 即便開始採取4-drug FDCs為主的治療，在中央衛生單位仍得留有散裝藥品來處理嚴重副作用案例的情形，一般是建議單一藥物處方保留整體抗結核藥物複合製劑的5%。
5. 內含藥物的品質需達到生體可用率標準的固定劑量複合製劑才可使用於治療。

目前抗結核病之 FDCs 藥物在製劑上容易遇到的問題有²³:

1. Rifampicin 在合併製劑中的 Bioavailability (BA) 下降。
2. Isoniazid 與 Ethambutol 之合併製劑容易吸濕受潮。
3. 藥物與賦形劑發生作用。
4. 合併製劑各內容藥物之劑量固定，因此在劑量調整上較為不易。

Rifampicin 在合併製劑中的 Bioavailability (BA) 下降始終是一個無法突破的障礙，造成此結果的原因很可能與 FDCs 藥物中的 Isoniazid 有關，Seifart., et al. 的研究指出，三合一 (Rifampicin + Isoniazid + Pyrazinamide) 之懸浮液製劑在4°C、pH = 5.23 的環境下保存28天，Rifampicin 的濃度只剩下初始的3%；二合一 (Rifampicin + Isoniazid 與 Rifampicin + Pyrazinamide) 之懸浮製劑分別在4°C、pH = 5.45與4°C、pH = 4.22中保存28天，Rifampicin 的濃度分別為初始的14%、100%²⁴。Singh., et al. 的研究則指出，含有 Rifampicin 與 Isoniazid 之合併製劑在胃酸的催化下會加速 Rifampicin 的降解，此降解產物又會與 Isoniazid 產生新物質 isonicotinyl hydrazone，此一反應很可能就是造成 FDCs 藥物中 Rifampicin 之 Bioavailability (BA) 下降的主要原因²⁵；而 Singh., et al. 在隨後的研究中發現 FDCs 藥物包含 Rifampicin 與 Isoniazid 的固體劑型在溫度與溼度的催化下也會發生此一反應²⁶；Hemant Bhutani., et al. 的研究更指出 Rifampicin 與 Isoniazid 在加入 Ethambutol 或是 Pyrazinamide 的三合一或四合一製劑中，會增加藥物的不安定性²⁷。由上述可知，Rifampicin 之 Bioavailability (BA) 的下降在抗結核病 FDCs 藥物中一直是最棘手也是難以解決的問題，雖然 Singh., et al. 發表的論文提出幾種假設性的解決之道，如：在 Rifampicin 的顆粒上包覆膜衣以避免其與 Isoniazid 直接產生交互作用；與制酸劑併服，提高腸胃道酸鹼值以減緩 isonicotinyl hydrazone 產生之反應等²³...，但目前尚未有研究證實這些方法之可行性，因此本計畫將參考這些方向，同時構思增加 FDCs 劑型之物化安定性的方法，以求順利突破 Rifampicin 在 FDCs 製劑中 Bioavailability (BA) 下降之障礙，開發適合國人使用的抗結核病 FDCs 製劑。

Hemant Bhutani., et al 則發現，若是 FDCs 藥物中含有 Isoniazid 與 Ethambutol，常會在鋁箔包裝上發現藥物的殘留粉末，這是因為 Isoniazid 與 Ethambutol 的合併製劑會增加吸濕性，導致藥物潮解，因此建議在藥物表面包覆膜衣以隔絕水氣，增加藥物的安定性^{28,29}。除了 Rifampicin 的 Bioavailability (BA) 下降問題與藥品吸濕性之外，賦形劑有時也會影響 FDCs 藥物的 Bioavailability (BA)，例如：賦形劑若具有吸附性，可能會吸附藥物而導致 Bioavailability (BA) 下降；Devani., et al. 則發現，若是賦形劑中含有糖類，將會與 Isoniazid 產生交互作用而降低腸胃吸收，甚至因此產生抗藥性，所以 FDCs 製劑中不能添加任何糖類^{23,30}。

由上述可知，改善劑型以提升 Rifampicin 之 Bioavailability (BA) 固然為目前 FDCs 製劑所面臨的最大課題，而製劑上仍有許多細節足以影響藥物的療效與安定性等，值得我們去發覺與建立解決辦法，因此本計畫著重在創造新劑型以突破 Rifampicin 之 Bioavailability (BA) 下降的障礙與提升藥物之安定性與療效，最終發展出適合國人使用之三合一或四合一抗結核病藥物。

本年度研究目標為進行正式人體臨床試驗，為達此目的，本實驗室已購買於歐盟核准上市之對照藥 (Rimstar)；申請衛生署及三軍總醫院人體試驗委員會之人體試驗核准同

意函，並與國內符合cGMP藥廠合作研發複方四合一抗結核病藥物雙層錠的處方，該製程已申請美國、台灣、中國大陸之製程專利。今年度共試製3批修正處方，共完成20次動物(狗)預試驗。由動物試驗結果選擇潛力配方，進行biobatch製造並生產可提供人體試驗之臨床用藥。本年度人體試驗預計至少完成30人次，本實驗室已完成30人次生體相等性臨床人體試驗(與計畫目標相符)，目前正進行檢品分析，待分析完成再將相關資料送至貴會備查。本實驗室已建立之LC/MS/MS之分析方法，可於人類及狗血漿中一次分析四種藥品成分，且線性關係良好，可加速結果的研判。為確保分析方法的穩定性，於人體試驗前亦完成分析方法之確效(包括間/同日內安定性分析、短期室溫安定性、分析期間安定性、冷凍解凍安定性等)。

計畫於本年度預定達成目標分別列述如下：

1. 四合一複方製劑之 biobatch 製造
2. 四合一複方製劑執行生體相等性試驗之準備(含藥品購買)與試驗核准申請
3. 視情況需要進行複方製劑於動物試驗
4. 執行四合一複方製劑人體生體相等性試驗，至少完成 40 (至少 36) 人次

表A、抗結核藥物的建議劑量與給藥頻率¹

Anti-tuberculosis drug	Recommended dose [mg/kg] (range)	
	daily	thrice weekly
Isoniazid	5 (4–6)	10 (8–12)
Rifampicin	10 (8–12)	10 (8–12)
Pyrazinamide	25 (20–30)	35 (30–40)
Ethambutol	15 (15–20)	30 (25–35)
Streptomycin	15 (12–18)	15 (12–18)
Thioacetazone	2.5	Not applicable

表B、抗結核固定劑量複合製劑的建議劑量^{9,10}

Drugs	Forms	Strengths
For daily use		
RHZE	Tablet	R 150mg +H 75mg + Z 400mg + E 275mg
RHZ	Tablet	R 150mg +H 75mg + Z 400mg; R 60mg +H 30mg + Z 150mg (paediatric) ^a
RH	Tablet	R 300mg +H 150mg; R 150mg +H 75mg; R 60mg +H 30mg (paediatric) ^a
EH	Tablet	H 150mg + E 400mg
TH	Tablet	T 50mg +H 100mg; T 150mg +H 300mg
For Intermittent use thrice weekly		
RHZ	Tablet	R 150mg +H 150mg + Z 500mg
RH	Tablet	R 150mg +H 150mg; R 60mg +H 60mg (paediatric) ^a

a Dispersible form preferred.

E = ethambutol; H = isoniazid; R = rifampicin; T = thioacetazone; Z = pyrazinamide.

2.2.2 開發無肝副作用抗結核藥物Isoniazid製劑

根據世界衛生組織(WHO)估計，全球大約有三分之一的人口感染肺結核，每年約有八百萬新增病例；而台灣新登記的肺結核病患人數最近幾年也不停爬升，每十萬人口有六十多人感染肺結核，但其中只有大約四分之三的人接受完整治療；根據衛生署的統計，台灣每天至少有4.2個人死於肺結核；在這麼多接受肺結核藥物治療的病患中，臨床上最常見的藥物副作用即為肝毒性和神經系統病變(如：聽神經和視神經病變)，其中又以肝毒性最為常見。再加上台灣又是B型及C型肝炎的盛行區，感染肺結核之肝炎患者也不在少數，假設每年有14,000名新增的肺結核病患，粗略估計至少有2,000名到3,000名慢性肝病患者需接受抗結核藥物治療，因此在這些病患身上所可能發生的肝毒性是吾人不可忽視的醫源性疾病。

多數的第一線抗結核藥物，例如：異菸鹼醯胺(isoniazid，俗稱敵癆剋星)、丙基硫異菸醯胺(pyrazinamide，俗稱敵癆新邁)及立復黴素(rifampin)等都有導致肝毒性發生的潛在不良反應；其中異菸鹼醯胺(isoniazid)是目前最有效的單一抗結核藥物，也最容易引起服用者產生肝毒性；在60年代末期陸續有異菸鹼醯胺(isoniazid)造成肝毒性的報告；異菸鹼醯胺(isoniazid)所造成具有臨床症狀的肝毒性約0.1-1%(Kopanoff and others 1978; Wu and others 1990; Hwang and others 1997)，而在10-20%的病患中，則可觀察到無症狀的肝功能異常(Kopanoff et al. 1978; Wu et al. 1990; Hwang et al. 1997)，這些肝功能異常通常於服藥後兩個月內發生。

如圖八所示，異菸鹼醯胺(isoniazid)在肝臟中主要經由氫-乙醯氨基轉移酶(N-acetyltransferase, NAT)的幫助而乙醯化，產生的中間產物乙醯化異菸鹼醯胺(acetylisoniazid)迅速被水解成乙醯化聯胺(acetylhydrazine)；乙醯化聯胺可以再經由氫-乙醯氨基轉移酶(N-acetyltransferase)被乙醯化成無毒性的雙乙醯化聯胺(diacetylhydrazine)，或者經由細胞色素P450 2E1 (CYP 450 2E1)氧化成具有肝毒性的分子，其中包括乙醯化偶氮(acetyldiazene)、乙醯銨離子(acetylonium ion)、乙醯自由基(acetylradical)、乙炔酮(ketene)等，另外在有氧及NADPH存在時，乙醯化聯胺會被細胞色素P450 2E1反應生成自由基而造成氧化壓力，導致細胞死亡；此外，異菸鹼醯胺(isoniazid)亦可經由醯胺水解酶(amidase)直接水解成有毒性的聯胺(hydrazine)，或者由上述乙醯化聯胺(acetylhydrazine)經醯胺水解酶(amidase)水解成有毒性的聯胺(hydrazine)。近來有研究顯示，聯胺(而非異菸鹼醯胺或乙醯化聯胺)是在兔及鼠體內造成異菸鹼醯胺引起之肝毒性(INH-induced hepatotoxicity)最可能的主因(Kopanoff et al. 1978; Wu et al. 1990; Hwang et al. 1997)，研究者認為異菸鹼醯胺引起之肝毒性的嚴重性與血漿中聯胺的濃度成正相關；1999年Sarich(Kopanoff et al. 1978; Wu et al. 1990; Hwang et al. 1997)等人的報導則認為對硝基苯酚磷酸二酯(bis-p-nitrophenyl phosphate, BNPP，為一種醯胺水解酶之抑制劑)可預防異菸鹼醯胺引起之肝毒性的傷害，其保護機制應是透過抑制異菸鹼醯胺產生聯胺。

合併使用異菸鹼醯胺(isoniazid)及立復黴素(rifampin)導致肝毒性發生機率增加的可能機轉為：(1)立復黴素誘發細胞色素P450 2E1的活性，使更多的乙醯化聯胺氧化成具有肝毒性的分子(Huang and others 2003; Argekar and others 1996)；(2)立復黴素誘發醯胺水解酶的活性，使得更多異菸鹼醯胺水解成有毒性的聯胺(Sarma and others 1986)。添加丙基硫異菸醯胺(pyrazinamide)於抗結核病藥物治療其增加肝毒性的機轉目前尚不明。

由上述機轉推測，欲降低異菸鹼醯胺及立復黴引起之肝毒性的發生率，可能可以經由以抑制細胞色素P450 2E1調控。細胞色素P450 2E1在肝臟中會持續的表現，並負責許多異物質(如：肝毒素四氯化碳(CCl₄)以及乙醯氨基酚(acetaminophen))的代謝生物反應(Lee and others 1996; Wong and others 1998)；異菸鹼醯胺及立復黴素本身即為CYP2E1的誘導

物(Yue and others 2004; Huang et al. 2003)；有些研究認為肝臟內的CYP2E1與異菸鹼醯胺引起之肝毒性的機制有關(Ramaiah and others 2001; Huang et al. 2003)。在體外試驗中，雙硫侖 (disulfiram, DSF)及其代謝物二乙基二硫代氨基甲酸(diethyldithiocarbamate)均被確認為老鼠及人類肝臟微粒體CYP2E1的選擇性抑制劑(selective mechanism-based inhibitors)(Guengerich and others 1991; Hunter and Neal 1975; Brady and others 1991)，Brady等人的試驗則顯示大鼠服用單一口服劑量的雙硫侖(DSF)後，會造成CYP2E1催化活性快速且完全的下降(Brady et al. 1991)。

由此可見，上述習用抗結核藥物異菸鹼醯胺(isoniazid)仍有諸多缺失，實非一良善之設計者，而亟待加以改良。本研究目的，為針對種最常用之第一線抗結核藥物isoniazid (敵癆剋星) 研究其造成副作用之可能機轉，並依據此機轉提出可能的解決方法、治療之建議及開發低副作用之異菸鹼醯胺(isoniazid, INH)新複方。

本計畫擬以本團隊於前期計畫發現之CYP2E1抑制劑/ amidase抑制劑，開發無肝毒性副作用之isoniazid製劑。本實驗室研發之CYP2E1抑制劑/ amidase抑制劑皆為本實驗室已申請台灣及全世界之PCT專利（申請號：ROC/096101545、ROC/097141522、PCT/CS2008/001353）之成分，且均為普遍含於食品、天然物之純成分或常用賦形劑，其安全無虞。目前已完成單一處方劑量36人次之臨床試驗，預計再進行24-60人次確定口服劑型組成及劑量之臨床試驗，將可完成處方設計，申請phase I、II、III study，核准用於結核病患者。

此計畫乃一接續上期成功開發結果之第二期連續型計畫，且預計可於二至三年開發成功，經衛生署核准，供病人使用。另本研究除上述的主要目的外，對其他含isoniazid抗結核藥物，也可減少其併用造成肝毒性副作用之可能，使病人服藥順從性大增。

2.2.3 應用代謝酵素抑制劑解決抗結核藥物Pyrazinamide肝副作用之研究

結核病(Tuberculosis)是一種目前仍普遍存在於全世界，尤其是未開發及開發中國家的慢性傳染病，它是由結核桿菌(*Mycobacterium tuberculosis*)感染所造成的，在初感染時，大約95%的人會因自身的免疫力而未發病，但會有終身再活化 (Reactivation)的潛在危險，只有5%的人在初感染後結核菌會經由血液或淋巴液之散播造成肺臟內或肺臟外結核(如結核性腦膜炎)。經過初感染而未發病的人，日後也可能因外在再感染(Exogenous reinfection)而發病。結核病可以發生在人體任何器官或組織，如淋巴結、腦膜、胸膜、腎臟、骨骼、皮膚、消化道、泌尿生殖道等；在臺灣比較常見的肺臟外結核是淋巴結核及骨結核，其次為結核性腦膜炎，肺臟外結核的發生率遠比肺結核來得低。若給予適當的抗結核藥物治療，結核病幾乎可以百分之百痊癒 (Cure)，但若不予治療，則在3年內，約有一半的病人會死亡。在臨床上病人常見的症狀有咳嗽、胸痛、體重減輕、倦怠、食慾不振，發燒、咳血等。唯這些症狀在其他慢性胸腔疾病亦會出現，故只能作為診斷上的參考之用。

多數的第一線抗結核藥物，例如：異菸鹼醯胺(isoniazid，俗稱敵癆剋星)、丙基硫異菸醯胺(pyrazinamide，俗稱敵癆新邁)及立復黴素(rifampin)等都有導致肝毒性發生的潛在不良反應，Ethambutol則有導致視神經炎的可能，而isoniazid及rifampin的人體代謝途徑及毒性機轉目前已有相當多的研究，而pyrazinamide雖已上市數十年，其相關的研究卻相對很少，代謝途徑僅有xanthine oxidase (XO)及amidase此二代謝途徑之初步研究，在人體各代謝途徑所佔的比例至今也不清楚，是何種代謝途徑造成肝毒性，亦無相關研究。Pyrazinamide(PZA)的使用多會與isoniazid及rifampin合併使用，併用PZA可將治療療程由9-12個月縮短至6個月，目前已有多家三合一複方上市，建議使用劑量為每日1200至

2000mg⁶⁶，不管是在治療的初期或是後續的維持期，均需服用PZA至少半年以上。長期使用PZA產生的主要副作用是肝毒性與高尿酸，患者常因高尿酸副作用停藥，並給予allopurinol來改善尿酸症狀。PZA產生肝毒性副作用之嚴重性並不亞於isoniazid⁶⁷，在2003年Stout等人發表的論文⁶⁸中提到，114個病人服用PZA兩個月後，其中，發展中肝臟酵素上升的病人有16%，肝臟酵素較正常值高於5倍者有7.9%，有肝炎症狀者佔5.3%，由此可知PZA所引起的肝毒性實不容忽視。

Pyrazinamide(PZA)的吸收非常良好，在服藥後2小時可達到最高血中濃度，而劑量範圍在20至25mg/kg時，其血中濃度約在30至50 μ g/mL。PZA在體內的分佈非常廣，包括肝臟、肺、CSF均為其分佈範圍。PZA約有10%會被血漿蛋白結合，其血漿排除半衰期於肝腎功能正常病人約為9至10小時，但是若肝或腎功能不全者，其半衰期很可能會延長；服藥後24小時約有70%劑量的PZA會以腎絲球過濾方式排除至尿中，其中約有4%至14%的劑量是以原藥物排除，其餘則是以代謝物形式排除⁶⁶。

PZA目前已知的代謝途徑如圖二十七所示，主要是經由肝臟中酵素pyrazinamidase代謝成pyrazinoic acid (PA)，另外，PZA與PA會再經由xanthine oxidase分別代謝成5-hydroxypyrazinamide(5-OH-PZA)與5-hydroxypyrazinoic acid(5-OH-PA)⁴，已知在人類的尿中主要的代謝物是5-OH-PZA，至於各代謝物所佔給予劑量的比率並不清楚；在大白鼠實驗中，在給予PZA後，其排至尿中的PA、5-OH-PA、5-OH-PZA及PZA分別佔劑量的百分比為 $25.4 \pm 1.7\%$ 、 $17.7 \pm 1.2\%$ 、 $11.6 \pm 0.8\%$ 及 $2.7 \pm 0.2\%$ ⁴。

目前針對PZA相關代謝酵素基因多型性研究，已有18個對偶基因被發現，結果詳如表二十六。Ichida於1993年研究指出，目前已發現位於691、783、2533、3183、與3309對偶基因辨識區域(coding region)，雖產生單一核苷酸變異(Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs)，各是691(Arg231→Gly)、783(Asn261→Lys)、2533(Ala845→Thr)、3183(Lys1061→Lys)與3309(Glu1103→Glu)，部分核苷酸變異亦產生胺基酸變異，但均未產生XO酵素活性變異的影響，可能該對偶基因屬高度保留區序列(highly conserved region)，如：783(Asn261→Lys)。2008年，Kudo研究從21個對偶基因發現445(Arg149→Cys)與2729(Thr910→Lys)，相較於野生型對偶基因(Wildtype)，上述兩種SNP組合xanthine oxidase不具酵素活性功能；另外，1663(Pro555→Ser)、1820(Arg607→Gln)、1868(Thr623→Ile)、2727(Asn909→Lys)、3449(Pro1150→Arg)與3953(Cys1318→Tyr)、2533(Ala845→Thr)、3183(Lys1061→Lys)與3309(Glu1103→Glu)，上述六種SNP組合xanthine oxidase酵素活性均低於野生型；2107(Ile703→Val)與3662(His1221→Arg)，上述兩種SNP組合xanthine oxidase酵素活性則高於野生型酵素達兩倍之多。由此可知上述產生單一核苷酸變異的對偶基因辨識區域，正是造成xanthine oxidase酵素具有基因多型性的原因之一，並對xanthine oxidase酵素活性產生影響^{70,71}。高加索人中約有20%屬於xanthine oxidase酵素相對活性低，而東方族群則約11%屬於相對活性低，其中男性較女性酵素活性高，造成此種差異的主要原因係因基因多型性導致xanthine oxidase產生活性變異，甚至缺乏活性^{72,73}，因此，瞭解PZA相關代謝酵素基因型於國人的表現在治療國人結核病上是有其一定程度的必要性。

本計畫目的為應用代謝酵素抑制劑解決抗結核藥物PZA之肝副作用，並研究PZA代謝酵素不同基因型與其毒性代謝物之風險評估，擬以抗結核藥物PZA代謝酵素抑制劑，配合台大、三總臨床收案檢品，解決抗結核藥物PZA之肝毒性，並研究PZA代謝酵素不同基因型與其毒性代謝物之風險評估，使此無肝毒性之藥物，提高用藥之順從性，為達成此目標，不管在學術或臨床應用上皆可對抗結核藥物有十分重要的貢獻。

2.2.4 以代謝酵素基因型預防 Isoniazid 及 Rifampin 所產生之副作用

結核病(Tuberculosis)是一種目前仍普遍存在於全世界，尤其是未開發及開發中國家的慢性傳染病，它是由結核桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)感染所造成的，在初感染時，大約95%的人會因自身的免疫力而未發病，但會有終身再活化 (Reactivation) 的潛在危險，只有5%的人在初感染後結核菌會經由血行或淋巴液之散播造成肺內或肺外結核 (如結核性腦膜炎)。經過初感染而未發病的人，日後也可能因外在再感染 (Exogenous re-infection) 而發病。結核病可以發生在人體任何器官或組織，如淋巴結、腦膜、胸膜、腎臟、骨骼、皮膚、消化道、泌尿生殖道等；在臺灣比較常見的肺外結核是淋巴結核及骨結核，其次為結核性腦膜炎，肺外結核的發生率遠比肺結核來得低。若給予適當的抗結核藥物治療，結核病幾乎可以百分之百痊癒 (Cure)，但若不予治療，則在3年內，約有一半的病人會死亡。在臨床上病人常見的症狀有咳嗽、胸痛、體重減輕、倦怠、食慾不振，發燒、咳血等。唯這些症狀在其他慢性胸腔疾病亦會出現，故只能作為診斷上的參考之用。

Isoniazid (INH)為目前最常用之抗結核(tuberculosis, TB) 藥物，通常會與 rifampicin (RMP), pyrazinamide (PZA)等藥並用，然而在治療結核病之餘，INH 同時也會對人體產生相當大的副作用 — 肝毒性⁹⁹⁻¹⁰³；此一副作用的產生是由於 INH 在體內經過肝臟酵素 N-acetyltransferase 2 (NAT2) 以及 Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1)代謝，進而產生具有肝臟毒性之代謝產物⁶⁻⁹，如圖 a⁵³；而人體則會利用 Glutathione (GSH) 與毒性代謝物行成水溶性的硫氫共軛物(Sulfhydryl conjugation)幫助此類毒性物質排出體外，在行成共軛物的過程中，GSH 需要藉由一種酵素 Glutathione S-transferases (GST) 的催化以幫助 GSH 與受質結合^{108, 109}，由上述可知，NAT2、CYP2E1 與 GST 三種酵素和 INH 產生之肝毒性與體內減毒作用有莫大的關聯，如圖 b¹⁰⁹。

INH 經腸道吸收進入人體之後，大部分在肝臟被 phase2 酵素 NAT2 轉變成 N-acetylisoniazid，目前已有研究指出，NAT2 具有基因多型性(gene polymorphism)，並且會對 NAT2 的活性造成顯著影響，在 NAT2 活性大的個體中，乙醯化反應快速(rapid acetylation)，INH 由於迅速代謝的緣故，在血漿內濃度不易上升，治療效果也受到限制；相對的在 NAT2 活性小的個體中，乙醯化反應慢(slow acetylation)，INH 由於代謝慢的緣故，反而容易使血漿內濃度累積而導致毒性或副作用¹¹⁰⁻¹¹²。而 Weber ., et al. 的研究指出，在高加索人中，約有 40~70%的人屬於 rapid acetylation，在東方族群中，卻只有約 16.7~26.7%的人屬於 rapid acetylation¹¹³，而造成此種差異的主要因素為種族基因型變異而導致 NAT2 活性的不同。

目前 NAT2 已有 36 個對偶基因被發現，其中 NAT2*4 屬於野生型對偶基因 (wild-type allele)，它是最早被發現的 NAT2 對偶基因，同時也被歸類為 rapid acetylation 基因，而其他如 NAT2*11A, *12A, *12B, *12C 和*13 也同屬於 rapid acetylation，這是因為這些多型性基因通常不會造成胺基酸變異，或是造成保留型(conservative)胺基酸變異¹¹⁴⁻¹¹⁶；相較於 NAT*4 等對偶基因，NAT2*5, *6, *10, *11B, *12D, *17, *18 和*19 等對偶基因則是屬於 slow acetylation，因為這些對偶基因會造成非保留型(non-conservative)胺基酸變異¹¹⁷⁻¹¹⁹，Fretland et.al. 的研究指出，目前已有 24 個對偶基因是屬於 slow acetylation^{115, 120-123}。在 NAT2 對偶基因中，共有 16 種單一核苷酸變異(Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs)，它們分別位於 111, 190, 191, 282, 341, 364, 411, 434, 481, 499, 590, 759, 803, 845, 857 和 859 對偶基因辨識區域(coding region)，而這些 SNPs 的組合正是導致 NAT2 酵素具有基因多型性的原因之一，舉例來說，341 (Ile¹¹⁴→Thr)的變異是 NAT2*5 的主要特徵，而 191(Arg⁶⁴→Gln)和 590 (Arg¹⁹⁷→Gln)變異則是

NAT2*14 及 *6 的主要特徵¹²⁴；Abe., et al. 的研究則發現，在高加索人中，NAT2*5 與 NAT2*6 發生的頻率幾乎與 NAT2*4 野生型相同；相反的，在東方人種中，NAT2*5 對偶基因幾乎不被發現，取而代之的則是發生頻率增加的 NAT2*4 野生型對偶基因^{125、126}，因此，高加索人多屬於 slow acetylation^{127~130} 而東方人多屬於 rapid acetylation。Sim 與 Hickman 的研究則指出，NAT2*5 在東、西方人的差異正是導致 low acetylation 基因型發生頻率不同的原因(Caucasians 52–68% and Japanese 10–15%¹³¹) (人種及 NAT2 對偶基因發生頻率差異請見表 c¹²⁴，人類 NAT2 對偶基因與 SNPs 關係請見 <http://www.louisville.edu/medschool/pharmacology/NAT2.html>)。由上述可知，造成 INH 產生肝毒性主要代謝酵素之一的 NAT2 活性會受基因多型性之影響而改變，而此多型性又與種族差異息息相關，因此，瞭解有關於 NAT2 基因型於國人的表現在治療國人結核病上是有絕對有必要的。

INH 在肝臟經由 NAT2 水解產生的產物為 acetylhydrazine，會再經由 CYP2E1 代謝產生具有肝毒性之代謝物；CYP2E1 是由酒精誘導的微粒體酵素，它會參與體內致癌物質與一些藥物的代謝，並且被認為和酒精引發的肝臟疾病及一些癌症的發生(如:肝癌)有關^{131~136}。CYP2E1 目前已被證實具有基因多型性(相關對偶基因與核苷酸變異請見 <http://www.cypalleles.ki.se/>)，而目前可用一種叫做限制酶片段多型性分析(restriction fragment length polymorphism, RFLP)的技術將 CYP2E1 之不同的對偶基因分析出來^{137、138}。

Yi-Shin Huang., et al. 在針對台灣人 CYP2E1 基因多型性的研究¹⁰⁴中指出，利用 RFLP 技術以限制酶 *RsaI* 分析可得到 CYP2E1 c1 與 CYP2E1 c2 兩種對偶基因(c1 表野生型對偶基因，c2 表變異型對偶基因)，而 c1 同型合子(homozygote) CYP2E1 c1/c1 基因型使用抗 TB 藥物發生肝毒性的機率要比存在 c2 對偶基因的 CYP2E1 酵素(CYP2E1 c1/c2、CYP2E1 c2/c2)來的高(c1/c1: 20.0%, odds ratio=2.52；c2/c2: 9.0%, $P=0.009$)；在 Nicolas Vuilleumier., et al. 發表的論文¹³⁹中也提到，利用 RFLP 技術以 *RsaI* 及 *TaqI* 為限制酶針對使用 INH 之病人進行分析所得到的 CYP2E1 對偶基因 CYP2E1 1A(野生型對偶基因)、CYP2E1 1B 及 CYP2E1*5 中，1A 同型合子的 CYP2E1 基因型之病人產生肝炎或造成肝指數上升之機率要遠比其他基因型的病人來的高(1A/1A: 39%，次高為 1A/1B: 15%， $P=0.02$)。

除此之外，Hermann., et al. 更針對 CYP2E1 的各種基因型與種族發生的頻率與功能影響做了一連串統整的研究¹³⁹，相較之下，我國目前針對 CYP2E1 各種基因型之國人發生頻率與功能影響之研究較少，而 CYP2E1 又是和 INH 產生肝臟毒性如此關係密切的酵素，因此，建立國人 CYP2E1 酵素的各種基因型的資料不但有助於完成收集國人重要基因型的目標，更可釐清 CYP2E1 與 INH 在藥動學上的關係，進而給予關於 INH 用藥上的建議。

一般來說，藥物造成肝毒性之程度主要視其毒性代謝物產生多寡及肝之解毒功能是否良好而定¹⁰⁹。Glutathione (GSH) 用硫氫基 (Sulfhydryl, SH) 與藥物產生之毒性代謝物結合而加速其從身體中排除，故其在清除細胞內自由基方面上扮演一個重要角色^{140、141}。麩胺基硫硫轉移酵素(Glutathione S-transferases, GST)為一種多功能酶酵素系統，其可催化 GSH 與藥物或外來物質結合之去毒作用反應^{142、143}。GSTM1 是 GST 家族中之 mu 類基因，其主要有三種對偶基因，分別為 GSTM1*A 與 GSTM1*B 之兩種活性型對偶基因 (active allele) 及 GSTM*0 之一種無價值型對偶基因 (null allele)。其中 GSTM*0 對偶基因是一種無價值之同型合子 (null homozygotes) 對偶基因，其無法產生任何蛋白質產物因而降低 GSTM1 解毒的功能¹⁴⁴。過去研究 GSTM1 多型性 (polymorphism) 之結果顯示在大部分族群中 GSTM*0 對偶基因產生之機率最高 (40%)

~60%)^{145、146}。其中在奈及利亞 (Nigerians) 及印度人 (Indians) 發生機率較低，而在中國人 (Chinese) 及麥克羅尼亞人 (Micronesians) 發生機率較高^{147、148}，如表二¹⁴⁹。INH 在肝臟經由 CYP2E1 代謝產生具有肝毒性之代謝物通常會與 GSTM1 酵素產生去毒作用然後才排出體外。Sodhi ., et al. 將 isoniazid 餵食於 GSTM*0 對偶基因老鼠，發現此藥誘導肝毒性的機會變大⁵²。Biduut ., et al. 發現 GSTM*0 對偶基因之肺結核病人，其服用抗結核藥物後增加肝毒性的機率會明顯地上升，推測出 GSTM1 在去除抗結核藥物 (isoniazid、rifampicin) 毒性之功能上占很重要一席之地¹⁰⁹。此外，GSTM*0 之同型合子對偶基因與增加疾病發生之危險性息息相關，包括腫瘤疾病…等。因此，能有效地瞭解國人之 GSTM1 多型性，對觀測病人臨床上用藥後之相關反應有很大的幫助。

在疾管局及生策會的支持下，主持人過去幾年的研究已發現若帶有 5 個 NAT2 單一核苷變異 (SNP) (rs1779930, rs11996129, rs1961456, rs1112005, rs2087852) 其中任一個 SNP 之 TB 病人，其服用抗結核藥物誘發肝毒性的風險顯著高於未帶這 5 個 SNPs 之 TB 病人達到 1.8 到 2.1 倍。而上述基因型在國人的發生頻率達到 0.297~0.461，亦即，有兩成多到四成多的 TB 患者是屬於服用抗結核藥物誘發肝毒性的高風險群。而目前的研究亦發現，國人在使用含 INH 之抗結核藥物時，其中有 25% 的患者發生肝功能異常的狀況，與上述高風險基因型之比率若合符節。另外，CYP2E1 SNP, rs3813865 之風險雖然未達顯著，但也偏高。經初步研究後亦發現，若以 NAT2 同時加上 CYP2E1 之基因組合來看肝副作用之風險，則發現至少有 5 種組合其風險高過 4 倍以上，較單一基因的風險又更大了許多。以上之研究均發現抗結核藥物的代謝酵素基因型與其所誘發產生之肝副作用息息相關。

因此，本計畫擬以前階段已發現之高風險基因型及其組合，進一步找出具有代表性之一個或兩個高風險基因型，如此方能快速及例行性的應用在臨床診斷上。在確認代表性之高風險基因型後，本計畫將實際運用在肺結核病人上，以前瞻性試驗方式，在結核病人治療前即先行測試其高風險基因型，並密切觀察其後續治療狀況及副作用發生狀況，以驗證高風險基因型的預測結果。除此之外，為因應群體計畫-「無副作用之抗結核藥物之研發」所需，本計畫將配合篩選出高肝副作用風險之 TB 患者，進行無副作用抗結核藥物之臨床試驗，觀察並確認新研發之無副作用藥物對高肝副作用風險之 TB 患者之效益。若時間經費許可，本計畫最後可將經證實的高風險基因分析製成快速且方便之 Kit 或基因晶片，如此，即可大量並快速的運用在 TB 患者的臨床診斷及預防治療上發生肝毒性而影響 TB 之治療成效。

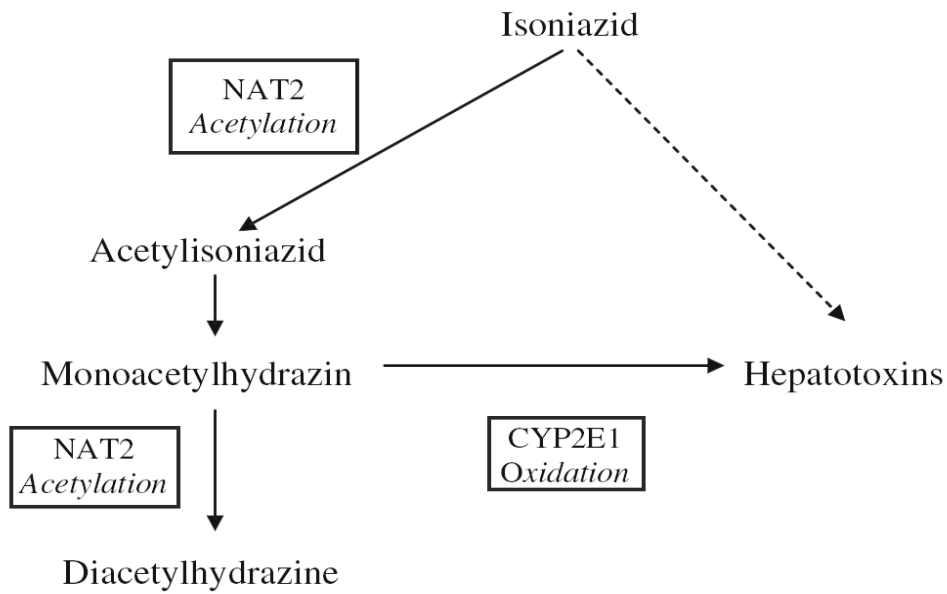


圖 a、Isoniazid 代謝過程與 NAT2、CYP2E1 二種酵素之相關性⁵³

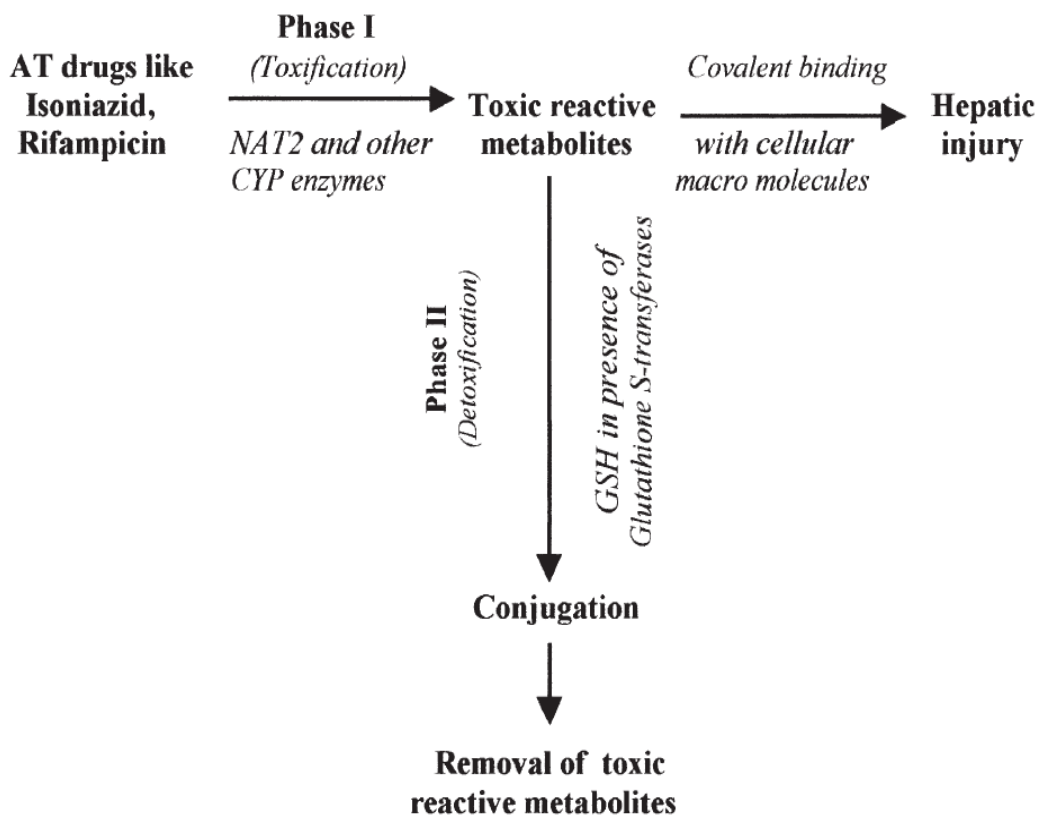


圖 b、Isoniazid 經 Phase I 與 Phase II 代謝之途徑 11

表 c、人種及 NAT2 對偶基因發生頻率 27

Table 2 Frequencies of most common NAT2 alleles in different ethnic groups

Ethnic group ^a	Allelic frequency (%)				References
	NAT2*4	NAT2*5 ^b	NAT2*6 ^c	NAT2*7 ^d	
<i>Caucasians</i>					
British	26	45	27	1.6	Hickman and Sim (1991)
Scottish	20	49	27	3.7	Smith et al. (1997)
Swedish	19	51	28	2	Smith et al. (1997)
German	23	47	28	1.3	Cascorbi et al. (1995)
French	18	52	25	1	Deloménie et al. (1996)
Spanish ^e	24	42	25	1.3	Agúndez et al. (1994, 1996c)
Portuguese	21	43	33	2.7	Lemos and Regateiro (1998)
Russian	23	42	32	3	Gaikovitch et al. (2003)
USA White ^e	24	43	30	2.5	Bell et al. (1993), Gross et al. (1999), Lin et al. (1994)
Arab	18	55	21	4	Woolhouse et al. (1997)
Egyptian	21	50	26	3	Hamdy et al. (2003)
Iranian	43	32	19	6	Bakayev et al. (2004)
Indian	26	33	38	3	Lin et al. (1994)
<i>Oriental</i>					
Japanese ^e	61	1.8	25	10	Deguchi, et al. (1990), Lin et al. (1994), Sekine et al. (2001)
Chinese	61	7	27	5	Rothman et al. (1993)
Korean	68	1.8	18	11	Lin et al. (1994)
Hong Kong	47	5.7	31	16	Lin et al. (1994)
Taiwanese	51	2.5	31	15	Lin et al. (1994)
Filipino	40	6	36	18	Lin et al. (1994)
<i>Africans</i>					
US Black ^{e,f}	34	30	23	5	Bell et al. (1993), Lin et al. (1994)
Gabonese ^g	6	41	22	2	Deloménie et al. (1996)
Dogons ^{h,i}	12	33	25	1.5	Deloménie et al. (1996)
<i>Amerindians</i>					
Ngawbe	74	2.5	0	23	Jorge-Nebert et al. (2002)
Embera	63	10	4	23	Jorge-Nebert et al. (2002)

^aOnly studies genotyping healthy individuals are presented.

^bCombined frequencies of all NAT2*5 alleles—NAT2*5B is the most common.

^cCombined frequencies of all NAT2*6 alleles—NAT2*6A is the most common.

^dCombined frequencies of all NAT2*7 alleles—NAT2*7B is the most common.

^eMean allelic frequencies from different studies, reporting similar results.

^fAlso 8–9% of NAT2*14A allele.

^gAlso 13% NAT2*12, 8% NAT2*13 and 8% NAT2*14 alleles.

^hMean allelic frequencies of caste and non-caste Dogons.

ⁱAlso 8–20% NAT2*12, 4–10% NAT2*13 and 5–7% NAT2*14 alleles.

表 d、人種 GSTM1 對偶基因發生頻率 51

Samples	Phenotype GSTM1				χ^2 (d.f. = 1)	Methods
	A	B	A/B	0 (Null)		
Brazilian (RJ) ^a	197	105	51	305 (46.0%)	11.49	PCR
Brazilian (DF) ^a	43	33	16	87 (48.6%)	6.77	PCR
Brazilian (SP) ^b	21	10	7	35 (47.9%)	3.98	S-GEF
Nigerians ^c	49	4	1	15 (21.7%)	0.09	PCR
Japanese ^d	13	68	5	80 (48.2%)	0.04	S-GEF
Chinese ^e	10	28	2	56 (58.3%)	0.01	S-GEF
Indians ^e	15	7	6	15 (35.0%)	1.93	S-GEF
French ^f	24	5	3	24 (42.9%)	0.31	S-GEF
English ^g	158	74	23	306 (54.5%)	1.96	PCR

d.f. = Degrees of freedom. S-GEF = Starch gel electrophoresis and PCR = polymerase chain reaction. ^aPresent paper. ^bKlautau-Guimarães, 1993.

^cZhao et al., 1994. ^dHarada et al., 1987. ^eBoard et al., 1990. ^fLaisney et al.,

1984. ^gHeagerty et al., 1996.

貳、 材料與方法

2.2.1 新穎抗結核病複方製劑之研究與開發

一、複方錠劑製造

依據世界衛生組織推薦 4-drug FDCs 所含的個別藥物劑量，來擬定本計畫所使用 4-drug FDCs 的藥物劑量 (Rifampicin 150mg + Isoniazid 75mg + Ethambutol 275mg + Pyrazinamide 400mg)，為避免產生一些製劑上的問題，造成無法達到個別藥物的生體可用率 (BA)，所以本計畫擬定採用膜衣錠 (film coating + enteric coating)，流體床顆粒製造器 (Fluidized-Bed Granulator) 製錠。FDCs 錠劑製成之後，再經由中華藥典所制定的重量差異、脆度、硬度、崩散度與溶離度和其在體內的生體可用率、藥物動力學模式等試驗，建立大量試製前的標準製造流程。

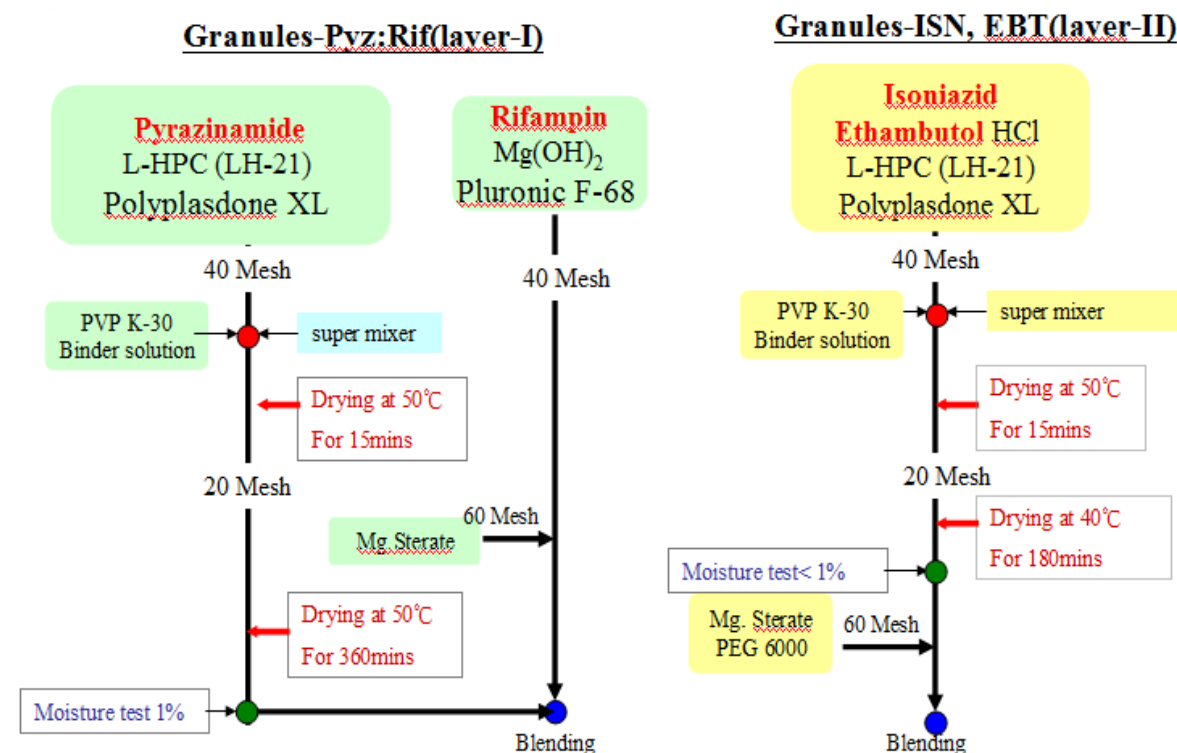
(一) 本計畫採用流體床顆粒製造器製錠之理由如下:

1. 流體床顆粒製造器是一種多功能造粒器，其設備同時具有混合、造粒、乾燥、及加衣等多項功能。
2. 流體床顆粒製造器可事先將藥品成分、稀釋劑及崩散劑以噴灑方式均勻混合。
3. 粘合劑之溶液，例如：阿拉伯膠水溶液、羥丙基纖維素等可以噴灑方式給予。

(二) 採用膜衣錠之理由如下:

1. FDCs 中含有 Ethambutol 及 Isoniazid 會增加藥物的吸濕性，促使藥物潮解及增加物化不安定性，因此使用 film coating 包覆製劑外層，以達阻絕水氣功效。
2. FDCs 中含有 Rifampin 及 Isoniazid 會降低 Rifampin 之 bioavailability (BA)，因此使用雙層錠，包覆 Rifampin 顆粒，以避免 Rifampin 及 Isoniazid 直接產生交互作用 (類似製劑方法，如: Bokey[®])。

(三) 製程概述：



Granules-Pyz:Rif(layer-I)

1. 練合液配製

[PVP K30 + 99.5% Alcohol] → 溶解

2. 造粒:

Pyrazinamide、L-HPC (LH-21)和 Polyplasdone XL 稍微混合，以 40 mesh 過篩

↓ **super mixer** 造粒: 先在 **super mixer** 中將上述粉末混合均勻 1 次/ 30 秒

↓ 練合液加入 **super mixer** → 2 次/ 60 秒

↓ 先行烘乾 50 °C , 15 mins

↓ 過篩 20 mesh

↓ 再進行烘乾 50 °C , 360mins

3. 測水分: (1%以下)

4. Rifampin、Mg(OH)₂ 及 Pluronic F-68 以 40 mesh 過篩

5. Mg. Sterate 以 60 mesh 過篩

6. 將步驟 (2)、(4)及(5)混合均勻。

Granules-ISON, EBT(layer-II)

4. 練合液配製

[PVP K30 + 99.5% Alcohol] → 溶解

5. 造粒:

Isoniazid、Ethambutol HCl、L-HPC (LH-21)和 Polyplasdone XL 稍微混合，以 40 mesh 過篩

↓ **super mixer** 造粒: 先在 **super mixer** 中將上述粉末混合均勻 1 次/ 30 秒

↓ 練合液加入 **super mixer** → 2 次/ 60 秒

↓ 先行烘乾 50 °C , 15 mins

↓過篩 20 mesh

↓再進行烘乾 50 °C , 180 mins

7.測水分: (1%以下)

8.PEG 6000 和 Mg. Sterate 稍微混合後以 60 mesh 過篩

步驟 (5)及(8) 混合均勻。

(四)打錠

錠劑重: 600mg(Target: Layer I: 360mg , Layer II: 240mg , Layer I and II: 600mg)

硬度: 10~11kg

(五)膜衣

Subcoating:

項次	成分名	單為量(mg)	%
1	HPMC606	19	79.2
2	PEG6000	2	8.3
3	Talc	0.9	3.8
4	TiO ₂	1.8	7.5
5	Alu lake Red	0.4	1.25
理論重量		24	100.0

1. HPMC 606 dissolved in 95% EtOH.[polymer conc.=7%(w/w),solvent conc.=90%(w/w)]

2. PEG 6000 dissolved in water, then add the solution to Step1

3. Disperse the Talc, TiO₂,Alu lake Red in 95% EtOH, and disperse by homoginizer, then add this suspension into step1, and keep sterring.

Condition: Inlet Temp. : 45°C Outlet Temp. : 35 °C

Overcoating:

		mg	%
1	Opadry	34.0	94
2	TEC	2.0	6
理論重量		36.0	100

Preparation:

1. Opadry AMB Brown dissolved in 3600g of water

[polymer conc.=10%(w/w),solvent conc.=30%(w/w)]

2. Dispersed the coating solution with stir, and keep stirring overnight.

3. Screen the solution with 100 mesh before start coating process.

Condition: Inlet Temp. : 60°C Outlet Temp. : 47 °C

二、血漿分析方法

1. Loading sample 100 µL beagle plasma (內含 0.5 mg/ mL 之 ascorbic acid)

2. Adding 100 µL 5% formic acid in water , 均勻混合 2 分鐘

3. Adding 800 µL IS mix (Ethambutol-d₄, Isoniazid-d₄, Rifampicin-d₃ in 1.25% formic acid in ACN), 均勻混合 5 分鐘

4. 以 13000 rpm 轉速離心, 10 分鐘

5. 取上清液以氮氣吹乾, 25 分鐘, 45°C

6. 以 500 µL 含有 0.1% formic acid 之 5%MeOH 回溶

7. 離心 13000 rpm，5 分鐘
8. 檢品以每次注射體積 5 μ L 進行分析

三、LC/MS/MS分析條件：

分析管柱：Waters[®] UPLC BEH C₁₈ (100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μ m)

移動相 A：5mM ammonium acetate pH5 H₂O

移動相 B：0.1% Formic acid in MeOH

Time(min)	%A	%B
0	95	5
2	95	5
5	10	90
6	10	90
6.5	95	5
10	95	5

流 速：0.25 mL/min

注射體積：5 μ L

分析時間：10 min

四、動物實驗-狗

實驗動物為 beagle dog 共6隻，由英國引進，經過兩週檢疫之後才可進行實驗，beagle dog 皆為雄性，年齡1-2歲，體重7-12 公斤，飼養與管理遵照實驗動物飼養管理及使用指南（The Chinese version of Guide for the Care and Use of Laboratory Animals），實驗步驟與流程遵守動物福利法（Animal Welfare Act, AWA）；所有實驗進行前一天，實驗動物禁食 12 小時，於實驗當天進行足部頭靜脈（cephalic vein of the leg）插管。

（一）試驗動物狗實驗設計：

因試驗用藥為對照品 Rimstar 劑量一半；試驗時餵食試驗用藥 2 顆；對照品 1 顆。

1. 實驗進行前抽取 1 mL 之空白血液
2. 以 50 mL 水口服管灌餵食 Rimstar 或藥廠試製合劑
3. 於投藥後第 0.25、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8、10、12 及 24 小時由足部頭靜脈之插管採取 1 mL 血液樣品
4. 血液需裝於含有 heparin 的試管且收集之血液需立刻離心（8000 rpm, 10 分鐘），離心後將血清分裝於試管內，儲存於 -80 $^{\circ}$ C 以供分析之用。

五、人體試驗

依據藥品生體可用率與生體相等性試驗準則規範，執行生體相等性試驗之藥品（含受試藥品及對照藥品），應先完成一般成品檢驗，並執行溶離曲線比對試驗。受試藥品與對照藥品之含量差異，不宜超過百分之五。供試驗之藥品生產批量，以最低不得少於一萬個劑型單位（dosage units）為原則，如有特殊情況，不在此限。但仍不得低於生產批量之十分之一。因此改良有潛力的抗結核病複方製劑，於 PIC/S 藥廠製造 bio-batch 並符合相關規範（如：配方設計裡的安定性試驗、分析方法確效...等等），以期完成相關生體相等性試驗前期申請之準備資料。

執行本次生體相等性試驗前，已於去年度(99 年)進行 30 人之身體相等性試驗，跟據試驗結果，進行討論分析，決定換 rifampin 原料並進行粒徑大小的控管，並在進行試

製，於今年(100年)11月進入主試驗。

茲將正式的複方製劑，於人體進行生體相等性試驗規劃如下：

將國內藥廠生產的Qstar劑型（尚未上市）（isoniazid 75 mg、rifampicin 150 mg、pyrazinamide 400 mg、ethambutol 275 mg）與歐盟上市Rimstar®的生體相等性（Bioequivalence）之臨床試驗。此生體相等性之臨床試驗，以一般治療劑量（isoniazid 300 mg、rifampicin 600 mg、pyrazinamide 1600 mg、ethambutol 1100 mg），兩階段的交叉試驗設計為主（包括二星期的清除期）。如圖一。

試驗目的：針對抗結核病四合一複方製劑Qstar相較於Rimstar之生體相等性試驗評估。

試驗對象：健康男性自願者。視實際需求，至少完成36人。

試驗場所：醫院之臨床試驗中心

試驗設計：

1. 本試驗為單一劑量，兩階段，交叉試驗。自願者在試驗開始前至少禁食10小時，試驗當天在做過身體檢查及生命徵象的檢查後，在前臂靜脈將放置一留置針，以方便連續12小時的抽血，共需抽血至72小時。

2. 健康受試者隨機分成兩組。

2.1 第一組於試驗開始前先抽取10毫升的空白血液，之後給予新四合一劑型Qmstar（isoniazid 75 mg、rifampicin 150 mg、pyrazinamide 400 mg、ethambutol 275 mg）四顆，以240毫升水一起服用，在服藥後0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48及72小時分別抽血5毫升。血液需裝於含有heparin的試管且收集之血液需立刻離心（3000 rpm, 10分鐘），離心後將血清分裝於試管（含有抗壞血酸，血清中之抗壞血酸濃度0.5mg/ml；用於避免rifampin氧化分解）內，檢品儲存於-80°C以供日後分析之用。經由二週之清除期（washout period）後，於試驗開始前先抽取10毫升的空白血液，之後給予已於歐盟上市之四合一Rimstar®二顆，以240毫升水一起服用，在服藥後0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48及72小時分別抽血5毫升。血液需裝於含有heparin的試管且收集之血液需立刻離心（3000 rpm, 10分鐘），離心後將血清分裝於試管（含有抗壞血酸，血清之抗壞血酸濃度0.5mg/ml；用於避免rifampin氧化分解）內，檢品儲存於-80°C以供分析之用。

2.2 第二組於試驗開始前先抽取10毫升的空白血液，之後給予已於歐盟上市之四合一Rimstar®二顆，併服240毫升水；經由二週以上之清除期（washout period）後，於試驗開始前先抽取10毫升的空白血液，之後給予新四合一劑型Qmstar四顆（isoniazid 75 mg、rifampicin 150 mg、pyrazinamide 400 mg、ethambutol 275 mg），其後的抽血時間如同第一組所述。

2.3 試驗期間投藥及抽血的當天，試驗執行人員將會監測體溫、血壓及脈搏速率，以確實評估試驗藥品的安全性。於試驗結束後，將再次執行與試驗開始前相同之體檢（X光及心電圖除外）。

3. 統計方法：

試驗主要獲得資料： C_{max} , T_{max} , $AUC_{0 \rightarrow t}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty}$, Cl/F , V/F , k_{el} , $t_{1/2}$ 等，以ANOVA統計分析方法來評估研發的抗結核四合一製劑Qmstar（尚未上市）（isoniazid 75 mg、rifampicin 150 mg、pyrazinamide 400 mg、ethambutol 275 mg）四顆與歐盟上市Rimstar®二顆於統計上的差異。

2.2.2 開發無肝副作用抗結核藥物 Isoniazid 製劑

(I) 不同處方之低副作用 Isoniazid 劑型於健康受試者體內藥動學研究

1. 試驗處理

利用 Rifamate (INH/RIF 150/300mg) 併服或不併服(1) HUCHE033 360mg；(2) HUCHE010 110mg；(3) HUCHE033 360mg + HUCHE010 110mg，於健康受試者進行 isoniazid、rifampin 及其代謝物藥動學比較研究。

2. 試驗分組

本試驗全程於三軍總醫院臨床研究中心執行，試驗分為三組，每組試驗共有 2 次階段性給藥，每次試驗間隔一週。第一組試驗：第 1 次給藥，口服給予國外原廠 Rifamate (INH/RIF 150/300mg)，第 1 次給藥後一週，同一批受試者進行第 2 次給藥，給予國外原廠 Rifamate (INH/RIF 150/300mg) + HUCHE033 (360 mg)；第二組試驗：第 1 次給藥，口服給予國外原廠 Rifamate (INH/RIF 150/300mg)，第 1 次給藥後一週，同一批受試者進行第 2 次給藥，給予國外原廠 Rifamate (INH/RIF 150/300mg) + HUCHE010 (110 mg)；第三組試驗：第 1 次給藥，口服給予國外原廠 Rifamate (INH/RIF 150/300mg)，第 1 次給藥後一週，同一批受試者進行第 2 次給藥，給予國外原廠 Rifamate (INH/RIF 150/300mg) + HUCHE033 (360 mg) + HUCHE010 (110 mg)。

3. 評估及統計方法

受試者的試驗數據及統計分析結果將會作一個整合性概述，藥物動力學數據以平均值及標準差描述，試驗中所得到的藥動學參數及數據上的顯著差異，將會以 pair t-test 或其他更適切的統計分析方法進行分析。

(II) 不同處方之低副作用 Isoniazid 劑型於健康受試者體內對 CYP2E1 活性及相關指標影響研究

1. 試驗處理

利用 CYP2E1 phenotyping 藥物 Chlorzoxazone (CZX)與 Rifamate (INH/RIF 150/300mg) 併服 CYP2E1 或 Amidase 抑制劑(1) HUCHE033 360mg；(2) HUCHE010 110mg；(3) HUCHE033 360mg + HUCHE010 110mg，於健康受試者進行 CZX 及其代謝物藥動學比較研究。

2. 試驗分組

試驗全程於三軍總醫院臨床研究中心執行，試驗分為三組，每組試驗共有 2 次階段性給藥，每次試驗間隔一週。第一組試驗：第 1 次給藥，口服給予國外原廠 Chlorzoxazone (500 mg) 與 Rifamate (INH/RIF 150/300mg)，第 1 次給藥後一週，同一批受試者進行第 2 次給藥，給予國外原廠 Chlorzoxazone (500 mg) 與 Rifamate (INH/RIF 150/300mg) + HUCHE033 (360 mg)；第二組試驗：第 1 次給藥，口服給予國外原廠 Chlorzoxazone (500 mg) 與 Rifamate (INH/RIF 150/300mg)，第 1 次給藥後一週，同一批受試者進行第 2 次給藥，給予國外原廠 Chlorzoxazone (500 mg) 與 Rifamate (INH/RIF 150/300mg) + HUCHE010 (110 mg)；第三組試驗：第 1 次給藥，口服給予國外原廠 Chlorzoxazone (500 mg) 與 Rifamate (INH/RIF 150/300mg)，第 1 次給藥後一週，同一批受試者進行第 2 次

給藥，給予國外原廠 Chlorzoxazone (500 mg) 與 Rifamate (INH/RIF 150/300mg) + HUCHE033 (360 mg) + HUCHE010 (110 mg)。

3. 評估及統計方法

受試者的試驗數據及統計分析結果將會作一個整合性概述，藥物動力學數據以平均值及標準差描述，試驗中所得到的藥動學參數及數據上的顯著差異，將會以 pair t-test 或其他更適切的統計分析方法進行分析。

2.2.3 應用代謝酵素抑制劑解決抗結核藥物 Pyrazinamide 肝副作用之研究

(一) TB 臨床患者尿液檢品收集與尿液分析 PZA 及其代謝物濃度

目的：TB 病人服用 PZA 藥物後，分析尿液中 PZA 及其相關代謝物 PA、5-HO-PZA、5-HO-PA 含量與 PZA 肝毒性之關係

方法：

1. 收集服藥 24 小時後的尿液，5000 r.p.m 離心 1min，上清液儲存至 -20°C，以作為日後分析用。

2. HPLC 系統如下：

Column: 5 µm particle, LiChroCART 250-4 LiChrospher 100RP-18

Flow rate: 0.9 ml/min；diluted 100fold；Load Volume: 20 µl

Mobile phase=0.01M pH 5.2 KH₂PO₄；UV-visible detector: 254 nm

Internal standard；10 mM 2,3-pyrazine-dicarboxamine

(二) PZA 相關代謝酵素基因型於國人發生頻率之研究

目的：收集 100 例結核病患資料，建立評估 PZA 相關代謝酵素 xanthine oxidase 不同基因型於國人發生頻率之研究

方法：根據文獻整理挑選 5 個合適的 xanthine oxidase (XO) single nucleotide polymorphism (SNP)：rs566362、rs1884725、rs2295475、rs17011368 與 rs72549369。從臨床 TB 患者抽血 3 mL 萃取取得 DNA 檢品 (1 ng/ul)後，xanthine oxidase SNP 分析係委託豐技生物科技股份有限公司分析，其 primer 序列設計詳如表二。豐技 SNP 基因型鑑定是以 Sequenom MassARRAY® iPLEX Gold chemistry (Sequenom, San Diego, CA)方式分析，並依所設計引子進行 multiplex-PCR 反應，PCR 反應結束後，再以揚離子交換樹脂去除鹽離子，最後再以 Mass Spectrometry 分析基因序列鑑定結果，建立評估 PZA 相關代謝酵素 xanthine oxidase 不同基因型於國人發生頻率，實驗流程示意圖如圖三。

(三) 評估 PZA 相關代謝酵素 xanthine oxidase 不同基因型造成肝毒性風險，並與 PZA 毒性代謝物進行相關性研究

目的：收集 100 例結核病患資料，建立評估 PZA 相關代謝酵素 xanthine oxidase 不同基因型造成肝毒性之風險，並與 PZA 毒性代謝物進行相關性分析

方法：根據文獻整理挑選 5 個合適的 xanthine oxidase (XO) single nucleotide polymorphism (SNP)：rs566362、rs1884725、rs2295475、rs17011368 與 rs72549369。從臨床 TB 患者抽血萃取取得 DNA 檢品後，xanthine oxidase SNP 分析由豐技生物科技股份有限公司以 Sequenom MassARRAY technology iPLEX gold chemistry 方式分析，並依所設計引子進行 multiplex-PCR 反應，PCR 反應結束後，再以揚離子交換樹脂去除鹽離子，最後再以 Mass

Spectrometry 分析基因序列鑑定結果。待取得 TB 患者 xanthine oxidase SNP 基因型鑑定資料後，對照 TB 患者 PZA 用藥歷程與肝功能相關生化值分析結果，針對 xanthine oxidase 不同基因型與 PZA 肝毒性做相關性與風險評估，並同時觀察 xanthine oxidase 不同基因型 TB 患者其尿液檢品中 PZA 與其毒性代謝物含量會否因基因型的不同而有所差異。

(四) PZA 併服或不併服相關代謝酵素抑制劑於健康受試者體內之藥動學研究

目的：評估健康受試者在有無併服 amidase 抑制劑下，研究 PZA 在健康受試者體內的藥物動力學變化與肝功能指數，建立 PZA 及 PZA 併服 amidase 抑制劑的安全性風險評估資料，並觀察 PZA 代謝酵素不同基因型與其毒性代謝物之風險評估，同時建立代謝酵素基因型對 PZA 及 PZA 併服 amidase 代謝酵素藥動學資料庫及安全性風險評估資料
方法：

本試驗於健康受試者進行 PZA 相關代謝酵素抑制劑對 PZA 及 PZA 併服 amidase 代謝酵素藥動學影響研究。本試驗為單一中心、開放標示及單一劑量給藥臨床試驗，受試者分 2 次給藥，第一給藥將會接受單一劑量 Pyrazinamide 500 mg，一週後同一批受試者再接受第二次給藥，接受單一劑量 Pyrazinamide 500 mg 併用 amidase 抑制劑 HUCHE033 540 mg，每一受試者至多參與兩個試驗階段。

研究 Pyrazinamide 口服錠對於其藥物動力學性質的影響試驗中，所有受試者在篩選體檢時，除一般項目外，另需給予半乳糖並抽血以檢測肝剩餘功能。試驗開始時受試者在給藥前先抽一次血，約 30 毫升，之後服藥一次，且必須留在三軍總醫院臨床研究中心 24 小時，從早上 8 點起，固定時間間隔抽血，Pyrazinamide 口服錠受試者分別於給予 Pyrazinamide 後 0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、12 及 24 小時，抽取血液檢體，在抽完第 12 小時的血液後，受試者即可返家休息，直到隔天早上 8 點，受試者必須自行返回臨床研究中心抽取第 24 小時的血液檢體。

所有血液檢體將以高效液相層析質譜儀 (LC/MS/MS) 分析其 Pyrazinamide 或其代謝物之濃度，並以獲得之數據計算相對生體可用率、濃度時間曲線下面積、最高血中濃度、達到最高濃度的時間以及排除半衰期等藥物動力學參數。

2.2.4 以代謝酵素基因型預防 Isoniazid 及 Rifampin 所產生之副作用

(一)、NAT2 基因型對偶基因之分析

分析方法如下⁵⁴：

NAT2 基因型對偶基因測定方式主要是利用 polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)，以 5' - AGATGTGGCAGCCTCTAGAA - 3' 為前導引子(forward primer)和 5' - ATTAGTGAGTTGGGTGATAC - 3' 為逆轉引子(reverse primer)來進行聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction，簡稱PCR)，接著再以限制酶 KpnI, TaqI 及 BamHI 進行消化反應(digestion)，消化產物在 5% 的 polyacrylamide 膠體上進行電泳分析，反應之環境設定如下(總體積為 50 μ l):

1. 200 μ M 去氧核苷三磷酸 dNTP
2. 100 nM 前導引子與逆轉引子
3. 10 mM Tris-HCl (pH 8.3)
4. 1.5 mM MgCl₂
5. 2.5 U AmpliTaq DNA polymerase

循環之環境(cycling condition)設定如下：

首先必須在 95°C 下維持 5 分鐘，接下來以 94°C 維持 1 分鐘、56°C 下 1 分鐘、72°C 下 1

分鐘，此種順序循環 35 次，延伸反應則是在 72°C 下維持 7 分鐘。

接著取 9 μ L 的 PCR 產物三份，分別以 KpnI, TaqI 及 BamHI 進行消化反應，消化產物在 5% polyacrylamide 膠體上進行電泳分析。

(二)、CYP2E1 基因型對偶基因之分析

分析方法如下⁵³：

CYP2E1 基因型對偶基因測定方式主要是利用 polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)，分別以 RsaI 5' - CCAGTCGAGTCTACATTGTCA - 3' 前導引子和 5' - TTCATTCTGTCTTCTAACTGG - 3' 逆轉引子, TaqI 5' - GGGCTTTCATCTTCATTTCTGA - 3' 前導引子, 5' - CAAAATGTGGGCTTTCATCTG - 3' 逆轉引子

來進行聚合酶連鎖反應，接著再以限制酶 RsaI 及 TaqI 進行消化反應，消化產物在 2% agarose 膠體上進行電泳分析，反應之環境設定如下(總體積為 50 μ l):

1. 200 μ M 去氧核苷三磷酸 dNTP
2. 0.5 μ M 前導引子與逆轉引子
3. 1.75 mM MgCl
4. 1 \times PCR Gold buffer
5. 2.5 U Taq Gold Dnapolymerase

循環之環境(cycling condition)設定如下：

首先必須在 95°C 下維持 10 分鐘，接下來以 94°C 維持 20 分鐘、62°C 下 1 分鐘，此種順序循環 35 次，延伸反應則是在 72°C 下維持 7 分鐘。

接著取 20 μ L 的 PCR 產物，37°C 下以 RsaI 限制酶消化 3 小時，TaqI 限制酶則在 65°C 下消化 3 小時，最後分別在 2% agarose 膠體上進行電泳分析。

(三)、GST M1 基因型對偶基因之分析

分析方法如下⁵⁵：

GST M1 基因型對偶基因測定方式主要是利用 polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)，以 5' - CTGCCCTACTTGATTGATGGG - 3' 為前導引子(forward primer)和 5' - CTGGATTGTAGCAGATCATGC - 3' 為逆轉引子(reverse primer)來進行聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction，簡稱 PCR)，反應之環境設定如下(總體積為 50 μ l):

1. 200 μ M 去氧核苷三磷酸 Dntp
2. 500 nM 前導引子與逆轉引子
3. 10 mM Tris-HCl (pH 8.4)
4. 1.5 mM MgCl₂
5. 50 mM KCl
6. 2.5 U AmpliTaq DNA polymerase

循環之環境(cycling condition)設定如下：

首先必須在 94°C 下維持 3 分鐘，接下來以 94°C 下 50 秒、55°C 下 50 秒、72°C 下 50 秒，此種順序循環 25 次，延伸反應則是在 72°C 下維持 10 分鐘。

最後經由 PCR 所產生的產物在 2% polyacrylamide 膠體上進行電泳分析。

(四)、以前階段已發現之高風險基因型及其組合(NAT2: rs1779930, rs11996129, rs1961456, rs1112005, rs2087852; CYP2E1: rs3813865)為基礎，進一步找出具有代表性之一個或兩個高風險基因型，如此方能快速及例行性的應用在臨床診斷上篩檢結核病人之高肝副作用風險基因型。

前階段計畫所發現的高風險基因型一共有 6 個，其中屬 NAT2 的基因型有 5 個，在做單一及組合基因型風險分析時均發現，NAT2 之 5 個基因型結果皆十分接近，似乎有連動現象，而基因之變異也常常存在所謂的 Linkage Disequilibrium (LD) 現象，因此，本計畫將以研究 LD 之方法，找出 NAT2 高風險基因型的代表性基因型(Taq SNP)，其研究流程如下所列：

1. 以前階段所收集之 367 例結核病人為基礎，將 5 個 NAT2 高風險 SNP, rs1779930, rs11996129, rs1961456, rs1112005, rs2087852 組合，理論上會有 3^5 種組合，但因有連動性之關係，組合數會大幅減少。
2. 以 367 例結核病人之臨床資料分析 NAT2 高風險 SNP 組合的肝毒性風險。
3. 以各別單一 NAT2 SNP 之風險分析結果逐一與 5 個 NAT2 高風險 SNP 組合做相關性分析，選擇相關性最好者，即為 NAT2 高風險基因型的代表性基因型(Taq SNP)。

(五)、以前瞻性試驗方式，在結核病人治療前即先行測試其高風險基因型，並密切觀察其後續治療狀況及副作用發生狀況，以驗證高風險基因型的預測結果。

國人結核病患高風險基因之前瞻性試驗，將與三總、高醫、台大...等結核病患人數較多之醫院合作收案，目前已在治療中尚未發生肝副作之病患及新開始治療之病患均納入收案，取得受試者血樣後，分析其 NAT2、CYP2E1 高肝副作用風險基因型 (NAT2: rs1779930, rs11996129, rs1961456, rs1112005, rs2087852; CYP2E1: rs3813865)，並以此資料預測病患發生肝副作用之可能性，並密切觀察其後續治療狀況及副作用發生狀況，以驗證高風險基因型的預測結果。

實驗設計：

本試驗延續過去 Risk analysis 及臨床試驗結果，於高肝副作用風險代謝酵素基因型結核病患者進行保肝措施影響的研究。試驗過程中，屬高肝副作用風險基因型結核病患者，將施予較密切的監測受試者 ALT、AST 及 GSP 值等生化值變化，其餘則依一般結核病患之治療程序並不給予特別之處理。由兩組之副作用發生率及相關體內生化值之比較，將可驗證高風險基因型的預測結果。

1. 試驗設計

納入標準/排除標準：

納入條件：

這個試驗的對象是身體健康的成年人，如果符合下面這些條件，在評估過其他的臨床檢驗結果之後，將可加入這個計劃：

- A. 年齡介於 20 至 70 歲肺結核病患
- B. 受試者同意書簽署同意參與本試驗

排除條件：

如果受試者具有下列這些條件，或經其他臨床評估為不適合，將無法加入這個計劃：

- A. 參加試驗前有濫用藥物或酒癮的情況
- B. 曾患有心臟血管、代謝、血液、肺、腸胃、肝、腎、泌尿及精神系統之疾病而主持人認為會影響臨床試驗

- C. 對 Isoniazid 或相似結構的化學物質服用後會產生過敏
- D. 曾有臨床顯著的過敏病歷，包含藥物過敏及慢性過敏性支氣管氣喘
- E. 試驗前四周內曾罹患任何臨床顯著疾病或進行手術
- F. 任何其他醫學相關原因，試驗主持人認定必須排除於本試驗

2. 臨床評估

受試者的試驗數據及統計分析結果將會作一個整合性概述，試驗數據以平均值及標準差描述，下列資料將列主要評估結果(primary endpoints)：

SGOT, SGPT, GSP, adverse event, NAT2 genotype, CYP2E1 genotype。

3. 統計分析

試驗中所得到的參數及數據上的顯著差異，將會以 95% confidence interval 及 ONE WAY ANOVA 或其他更適切的統計分析方法進行分析。

叁、結果

2.2.1 新穎抗結核病複方製劑之研究與開發

本實驗室已與國內符合PIC/S藥廠合作研發複方四合一抗結核病藥物雙層錠的處方研發及試製。利用雙層錠來解決Rifampicin 在合併製劑中的 Bioavailability (BA) 下降及 Isoniazid 與 Ethambutol 之合併製劑容易吸濕受潮的問題。各試製處方均以WHO建議劑量 (pyrazinamide 400 mg、rifampicin 150 mg、isoniazid 75 mg 和 ethambutol hydrochloride 275 mg) 進行四合一雙層錠試製。

於實驗分析方面，本實驗室已建立 LC/MS/MS 之分析及確效方法，可於人類及狗血漿中同時分析 isoniazid、rifampicin、pyrazinamide 及 ethambutol 四種藥品成分。本分析方法在人類及狗血漿所使用的含量範圍內線性關係良好，可準確地於十分鐘內分析血漿中四種主成分藥物在血漿中的藥物濃度，快速判斷結果，有利於檢品分析及進一步修正處方再進行試製。為確保分析方法的穩定性，於人體試驗前亦完成分析方法之確效 (包括間/日內安定性分析、短期室溫安定性、分析期間安定性及冷凍解凍安定性等)。各成份之分析圖譜如：圖二、質荷比的選擇如：表一、確效分析如：表二~六。

計劃於去年9月份完成RIP1051T及Rimstar共30人次生體相等性臨床人體試驗。統計分析資料顯示，試驗藥(RIP1051T (Qstar)) 與對照藥Rimstar於4種目標成份(isoniazid、rifampicin、pyrazinamide及ethambutol)之曲線下面積(AUC_{0-t} 、 AUC_{∞})並無統計上差異，其90%信賴區間均在80%~125%之間；最高血中濃度(C_{max})亦無統計上差異，其90%信賴區間亦為在80%~125%之間，除rifampicin於試驗藥(RIP1051T)之 C_{max} 較對照藥Rimstar稍偏低之外。綜合上述，試驗藥(RIP1051T)與對照藥Rimstar於人體試驗中之曲線下面積及最高血中濃度之表現均類似，除rifampicin之吸收速率較慢外。

本年度根據去年結果進行討論分析有關此四合一複方製劑上配方之改善，主要是在rifampicin溶離改善上，期望找出改善增加吸收速率的主要調控因子。首先基於體外溶離試驗與於狗及人體試驗結果作一檢討，由進行人體試驗之Qstar (試驗產品) 之rifampin體外溶離試驗顯示，rifampin在pH 1.2溶液條件下自劑型中之溶離較對照產品為快，但在pH 4.5及6.8溶液條件下自劑型中之溶離較對照產品為慢且較不完全(請見圖三)；而相對於體內試驗(如圖四)：於狗之吸收試驗顯示出Qstar之rifampin吸收也較對照藥品Rimstar為慢且吸收較差，而吸收較差可能原因為狗的腸子較短，對於在腸道溶解教不完全且慢的藥物，相對吸收時間較不足所致，再根據之前人體預試驗(n=6)結果顯示此現象於給與腸子較長的人體之吸收量應不會有顯著影響。然如前述，再給與30人次的人體試驗亦驗證rifampin之吸收量確時與對照產品具相等性，但吸收速率卻仍較慢，以致在最高血中rifampin濃度並未落在相等性之範圍之內。由此體內溶離與體內藥物吸收之相關性來分析，可以顯示出對rifampin而言，pH 1.2溶液條件下自劑型中之溶離結果並不具體內體外之相關性，而在pH4.5及6.8條件下的體外溶離試驗結果是具有體內體外之相關性，也就是說製劑配方之選擇與評估應以溶離媒液酸鹼度較高之結果為依據。

為盡快解決相關問題，經過市場資訊分析，找到對照藥品使用之原料供應商，以期使用相同之原料來源以減少此水溶性不佳原料可能造成之不確定因素。首先取得少量之試用原料後進行相關原料藥之分析比對。原來使用的Rifampin之原料與新購得之原料在粒徑分部上沒有太大的差異。此外對於rifampin之原料藥之晶型之影響亦在檢討之內，再經果仔細相關文獻之檢討與分析顯示，rifampin之藥物晶型不同並不會影響其溶離結果。若是在原料基本性質分析上並無顯著差異性，可能造成藥物溶離速率上之差異就有可能是製程上或製劑配方上的差異所造成。因四合一複方製劑之製程上已達一穩定可靠之程度，故對於rifampin溶離改善仍以些微調整製劑配方為主。目前在配方上對照

藥品有加入SLS劑面活性劑，此推測應對於rifampin之溶離有所幫助(至少是在其之製程下)，故本研究亦於製劑中添加適量SLS於rifampin之配方中來試製，其體外溶離試驗結果顯示此反而會降低rifampin於pH6.8媒液中自製劑中之溶離(如圖五)。在不改變製程條件下，另依增加溶離速率之方法是藥物之粒徑大小，經過數次實驗與試製後，其體外溶離試驗結果顯示在改變rifampin之粒徑大小後，再添加相同量之SLS配方下，其體外溶離試驗結果顯示此可顯著改善rifampin於pH6.8媒液中自製劑中之溶離(如圖五)。故在此兩項因素的控制下，可以於劑有之製程下有效的調控rifampin體外溶離結果，此將有助於製劑品質之控制與篩選。

本計畫亦於今年購入新的四合一製劑對照品300顆(批號517416)，效期到2012年3月。並且進行此新購入批次的溶離試驗，並與之前購入的對照品比較；結果顯示在pH1.2及pH4.5媒液中rifampin自製劑中之溶離均較前一批次(去年購入進行人體試驗批次)為慢，而此研究另行試製的四合一製劑批號110323T則是獻釋出較佳之溶離現象(如圖六所示)。顯示已能有效改善試驗製劑中rifampin的溶離，且試製製劑是以今年新購入之批次來進行比對。在經過上述之努力後，可以掌控溶離rifampin溶離變因後，另須項與對照品相同原料商購入大量之原料以供Biobatch之製造。此原料購入後上需經GMP相關要求檢驗合格再進行試製。目前已完成Biobatch之製造，且已試製完成之試驗產品與對照藥品的藥物含量測定，結果如表七所示，結果顯示isoniazid、rifampin、pyrazinamide及ethambutol四種藥品成分與對照品相比，均符合小於5%差異之要求，且均符合藥典藥品含量測定的要求。並進行rifampin與原廠的體外溶離比對(如圖七所示)；在pH1.2時，30分鐘內即溶出85%，在pH4.5時，如同批號110323T溶離比對，新一批的對照藥(批號517416)，是有放得比較慢的趨勢。

在人體試驗方面於100年完成試驗藥Qstar及對照藥Rimstar共36人次之人體臨床試驗，人體相等性臨床試驗的血中濃度比對結果如圖壹至肆，人體試驗的藥動相關參數如表壹，四合一處方Qstar與對照藥Rimstar於人體試驗之統計分析結果如表貳。由36人次人體相等性臨床試驗結果得知，此計畫所開發之複方四合一抗結核藥物製劑除isoniazid及ethambutol之最高血中濃度(C_{max})落於85-125%的90%信賴區間之外，期他三種藥物的最高血中濃度與曲線下面積(AUC)均落於85-125%的90%信賴區間之內(包括isoniazid及ethambutol之AUC)，此顯示試驗之製劑以與對照藥品有非常相近之相關體內藥動性質；但還未達生體相等性標準。唯本案合作廠商自行出資增加受試者人數，因受試人數增多，最後是有達生體相等性標準的可能。

2.2.2 開發無肝副作用抗結核藥物 Isoniazid 製劑

(I) 不同處方之低副作用 Isoniazid 劑型於健康受試者體內藥動學研究

已完成共28人次臨床試驗，結果顯示，併用HUCHE033 360 mg在健康受試者體內確實有抑制amidase的作用，併服HUCHE033 360 mg組服藥後體內經amidase之代謝物INA其C_{max}可顯著降低至68%(圖十一、表十)；併用HUCHE010 110 mg在體內對amidase之代謝影響並不顯著(圖十五、表十四)；而同時併用HUCHE033 360 mg及HUCHE010 110 mg，在健康受試者體內對於抑制amidase的作用有加乘效果，服藥後體內經amidase之代謝物INA其AUC_{infinity}可顯著降低至59%，降低幅度比單獨使用HUCHE033 360 mg或HUCHE010 110 mg都大(圖十九、表十八)。

在不同處方之低副作用Isoniazid劑型對於健康受試者體內isoniazid及rifampin原型藥物藥動學之影響方面，各組isoniazid及rifampin血中濃度圖及各藥物動力學參數如圖九至二十及表八至十九所示，結果顯示單獨或同時併用HUCHE033 360 mg或HUCHE010

110 mg於健康受試者體內的isoniazid及rifampin藥物動力學影響並不顯著，isoniazid及rifampin血中濃度及各項藥動學參數於兩組間並無顯著差異。

(II) 不同處方之低副作用 Isoniazid 劑型於健康受試者體內對 CYP2E1 活性及相關指標影響研究

已完成28人次臨床試驗，結果顯示單獨或同時併用HUCHE033 360 mg或HUCHE010 110 mg對CZX及CYP2E1其代謝物6-OH CZX血中濃度及各項藥動學參數影響皆不顯著（圖二十一至二十六、表二十至二十五）。

2.2.3 應用代謝酵素抑制劑解決抗結核藥物 Pyrazinamide 肝副作用之研究

(一) TB 臨床患者尿液檢品收集與尿液分析 PZA 及其代謝物濃度

收集分析107位TB患者尿液檢品，經藥歷資料確認是否服用PZA後，未服用PZA或檢品藥物濃度低於偵測極限共排除22位，服用PZA且具肝毒性有24位，無肝毒性有61位，結果經原藥物PZA規格化後，結果如表二十八、表二十九所示，顯示5倍肝毒性患者尿液中5-OH-PA比例明顯高於2倍肝毒性與無肝毒性患者(5-OH-PA/PZA: 523.6 ± 79.6 to 128.9 ± 20.1 or 49.0 ± 6.3 , $p < 0.005$)，2倍肝毒性患者尿液中5-OH-PA比例亦明顯高於無肝毒性患者(5-OH-PA/PZA: 128.9 ± 20.1 to 49.0 ± 6.3 , $p < 0.005$)，代表服用PZA有肝毒性患者尿液中5-OH-PA/PZA比例，會隨著肝毒性嚴重性而增加，即有肝毒性患者PZA可能被代謝較多，導致尿液中含量減少。另外5倍肝毒性患者尿液中PA比例明顯高於無肝毒性患者(PA/PZA: 46.3 ± 15.0 to 10.7 ± 1.5 , $p < 0.005$)，2倍肝毒性患者尿液中PA比例亦明顯高於無肝毒性患者(PA/PZA: 32.7 ± 7.3 to 10.7 ± 1.5 , $p < 0.005$)，表示服用PZA有肝毒性患者尿液中PA/PZA比例，會隨著肝毒性嚴重性而增加。PZA肝毒性可能與其代謝物如PA及5-OH-PA的多寡有關。

(二) PZA 相關代謝酵素基因型於國人發生頻率之研究

完成xanthine oxidase 5個SNP allele frequency分析，共分析167位TB患者的DNA樣本。其中 rs1884725與2295475有較相似的 allele frequency，wild-type /mutant allele 的分佈各是72.5/27.5與51.5/48.5百分比，而在 genotype 分佈上各是 wildtype 72.5%與51.5%，heterozygous mutant 25.1%與38.8%及 homozygous mutant 2.4%與9.7%；而rs17011368，wild-type /mutant allele 的分佈各90.4/9.6百分比，在 genotype 分佈上各是 wildtype 90.4%與heterozygous mutant 9.6%，在這次樣本中未發現homozygote genotype；另外，在rs566352與rs72549369 allele frequency分析，在這次樣本中僅發現wildtype genotype而無找到任何mutant genotype，結果如表三十所示。

(三) 評估 PZA 相關代謝酵素 *xanthine oxidase* 不同基因型造成肝毒性之風險，並與 PZA 毒性代謝物進行相關性研究

XO不同基因型與PZA藥物肝毒性風險試驗，已分析完成167位TB患者基因試樣，已分析完成XO 5種SNP之結果，發現有3種單一核苷酸發生變異(SNP)，各是rs1884725、rs2295475、rs17011368，其中SNP rs1884725、rs2295475與PZA藥物引起肝毒性風險比(Odds ratio)各是5.372 ($p = 0.002$)、12.964 ($p = 0.000$)，結果如表三十一所示。

(四) PZA 併服或不併服相關代謝酵素抑制劑於健康受試者體內之藥動學研究

PZA代謝酵素抑制劑於健康受試者體內之藥動學研究，PZA併服不併服HUCHE033，

PZA藥物與其相關代謝物於健康受試者血中濃度變化如圖二十八所示，藥動學參數結果如表三十二所示，結果顯示併服HUCHE033對PZA於健康受試者體內的藥物動力學影響並不顯著，並能有效降低PZA毒性代謝物5-OH-PA (AUC: 7.41 ± 0.73 to 5.42 ± 0.72 , $p < 0.01$)，amidase抑制率約25%。經PZA 規格化，將PZA代謝物5-OH-PA、PA、5-OH-PZA各別除以PZA原藥物曲線下面積(AUC, area under the curve)比值，為metabolic ratio，如表三十三所示，結果顯示HUCHE033能有效降低PZA毒性代謝物5-OH-PA (ratio of plasma AUC with 5-OH-PA / PZA: 5.92 ± 1.13 to 3.60 ± 0.43 , $p < 0.01$)與PA (ratio of plasma AUC with PA / PZA: 28.23 ± 3.60 to 21.35 ± 3.20 , $p < 0.01$)比率，amidase抑制率約39%，顯示HUCHE033於人體內可能仍具抑制amidase效果，且可降低5-OH-PA/PZA或PA/PZA等毒性代謝物比例，推論HUCHE033在人體內可能具降低PZA藥物肝毒性潛力。

2.2.4 以代謝酵素基因型預防 Isoniazid 及 Rifampin 所產生之副作用

國人的 NAT2、CYP2E1 及 GSTM1 SNPs 和 TB 藥物誘發肝毒性的相關性研究

以過去累積超過 400 例之結核病患者基因型檢驗結果與臨床資料分析，在 SNP 和 TB drug-induced hepatotoxicity 的相關性的分析上，我們進一步以 2X2 及 2X3 的 Chi square 檢定方式，找到了 7 個 NAT2 SNPs 在 TB drug-induced hepatotoxicity 有顯著的相關性，較過去的成果增加了 2 個 SNP 的顯著相關性。結果發現若帶有此 7 個 NAT2 SNPs 其中任一個 SNP 之 TB 病人，其服用抗結核藥物誘發肝毒性的風險顯著高於未帶這 7 個 SNPs 之 TB 病人達到 1.8 到 10.3 倍。

這些 NAT2 SNPs 分別是，rs1779931 (Homozygous, odd ratio = 10.294, $p = 0.009$)，rs1799930 (hetero + homozygous, odd ratio = 1.824, $p = 0.042$)，rs11996129 (hetero + homozygous, odd ratio = 1.897, $p = 0.030$)，rs1961456 (homozygous, odd ratio = 3.333, $p = 0.004$)，rs1112005 (hetero + homozygous, odd ratio = 1.824, $p = 0.042$)，rs1041983 (homozygous, odd ratio = 2.175, $p = 0.047$) 和 rs2087852 (hetero + homozygous, odd ratio = 2.076, $p = 0.014$)。而 CYP2E1 SNP 與 GSTM1 SNP 和 TB drug-induced hepatotoxicity 的 risk analysis 上則依然未發現明顯的相關性(表三十四 與表三十五)。

以 Multi-point methods 評估 NAT2 基因型組合對產生肝副作用風險之影響

以 CYP2E1 與 NAT2 SNP 基因型進行 multi-points 組合分析以進一步評估高肝副作用風險之基因組合，我們發現以 CYP2E1 rs2249695 與 7 個 NAT2 SNP 均具有顯著提高的肝毒性風險(表三十六)，其中以 CYP2E1 rs2249695 之 Wild type 與 NAT2 rs1799931 之變異型之組合具有最高的風險比，為低風險族群之 12.571 倍，並具有顯著差異($p < 0.05$)。具有次高風險比的則為 CYP2E1 rs2249695 之 Wild type 與 NAT2 rs1961456 之變異型組合，其風險比為 5.5 倍，且極具顯著性($p < 0.005$)。雖然 CYP2E1 rs2249695 與 NAT2 SNP 之組合具有最高的風險比(12.571 倍)，然而因人數比例較低(2%)，與現行統計約 18% 之肝毒型發生率差距仍大，故此風險組合較不適於作為前瞻性試驗之基因型分組方法。

以 7 個高風險 NAT2 基因型進行 multi-points 組合分析以進一步評估高肝副作用風險之基因組合，我們嘗試以 2 個到 4 個 SNPs 的排列組合進行統計檢定，目前發現至少有 8 種組合會顯著的提升抗結核藥物之肝毒性副作用風險，最高風險比(Odds ratio)可達 4.1 倍($p < 0.001$) (詳如表三十七)。在 2 個 NAT2 SNPs 間的組合方式中，帶有 rs1961456 或 rs1799931 之任兩點以上變異(兩者皆為異合子變異 heterozygous 或至少其之一為同合子變異 homozygous，或兼具者)之患者，可定義為抗結核藥物引發肝毒性之高風險族群，其人數比例約佔全體患者之 26%，而在高風險族群中，實際發生肝毒性副作用的比例為 36% (81 例中有 29 例發生肝毒性)，為低風險族群發生率 12% 之 3 倍，顯著高出甚

多，而風險比則為低風險組之 4.1 倍($p<0.001$)。同樣具有顯著影響的 2 個 SNP 組合為 rs1961456 與 rs1041983，其高風險族群人數比例為 20%，高、低風險族群發生肝毒性比例分別為 35 及 14%，高風險組發生肝毒性之 Odd ratio 為低風險組之 3.26 倍($p<0.001$)。以及帶有 rs1961456 與 rs2087852 之高風險組合，其高風險族群人數比例為 12%，高、低風險族群發生肝毒性比例分別為 37 及 16%，高風險組發生肝毒性之 Odd ratio 為低風險組之 3.17 倍($p<0.001$)。

在 3 個 NAT2 SNPs 間的組合方式中，我們發現以帶有 rs1961456、rs1799931 與 rs2087852 組合之高風險族群具有最高的風險比(odds ratio=3.939, $p<0.001$)，其高風險族群人數比例為 27%，高、低風險族群發生肝毒性比例分別為 35 及 12%。其次為 rs1961456、rs1799931 與 rs1041983 之組合，其高風險族群人數比例為 29%，高、低風險族群發生肝毒性比例分別為 34 及 12%，高風險組發生肝毒性之 Odd ratio 為低風險組之 3.84 倍($p<0.001$)。

而在 4 個 NAT2 SNPs 間的組合方式中，以 rs1961456 * rs1799931 * rs2087852 * rs1041983 之組合最具代表性，其高風險族群人數比例為 29%，高、低風險族群發生肝毒性比例分別為 33 及 12%，高風險組發生肝毒性之 Odd ratio 為低風險組之 3.692 倍($p<0.001$)。

雖然以 7 個 NAT2 高風險 SNP 基因型進行排列組合，理論上會有 3^7 種不同的組合方式，然而由於各基因型間具有連鎖不平衡(Linkage disequilibrium, LD)等現象，可能因此大幅減少具顯著性影響的組合數目。且由結果發現，雖然以 4 個 SNP (rs1961456 * rs1799931 * rs2087852 * rs1041983) 或 3 個 SNP (rs1961456 * rs1799931 * rs1041983) 之組合方式，可預測之高風險族群人數比例(均達總人數 29%)、以及實際肝毒性副作用發生案例數(全體 56 例中，高風險佔 30 例)均最高，然而以 rs1961456* rs1799931 之組合在高低風險組間具有最高的發生率差異與風險比(12% vs. 36%, odd ratio = 4.131)，且僅需分析 2 個位點之基因變異，對於未來臨床應用或開發快速檢驗測試晶片或試劑具有較佳的競爭優勢。顯示以此兩種 SNP 組合方式作為預測結核病患者服用抗結核藥物後發生肝毒性之風險，具有最佳的代表性，同時亦具有較佳之成本效益(cost-effectiveness)。

以前瞻性試驗驗證高風險基因型組合於結核病患者發生肝副作用之風險

以前述的研究成果為基礎，我們以前瞻性試驗的方式進行臨床追蹤，將新確診感染、剛開始或重新開始接受治療之結核病患者納入追蹤觀察，今年度我們累計納入 TB patient 的總人數為 61 人，已完成基因分析有 59 人，但扣除掉 B 肝或 C 肝帶原者及 SNP no call 總數超過半數以上，可分析的人數為 55 人，而其中有 4 例是被判定有 TB drug-induced hepatotoxicity。經基因型分析後，可將受試者區分為高風險或低風險組，各基因型分組與發生肝毒性人數如表三十八所示。將受試者依過去研究所建立之高風險基因組合進行分組，分別檢視高低風險組之人口學資料顯示，兩組間不論在性別，平均年齡及初始之肝功能指標 AST、ALT 均無顯著差異，顯示此分組方式係單純依據患者之基因型組合，無其他風險因子的干擾(詳如表三十九)。

合併檢視過去累積之基因型分組結果與今年度之前瞻性試驗結果顯示由目前的結果我們發現，以過去累積成果找出的 rs1961456*rs1799931 兩種 SNP 組合，在預測高風險族群 TB 患者發生抗結核藥物肝毒性副作用之情形相當具有代表性(表四十)。經基因分析後，rs1961456*rs1799931 之高風險群佔全體可分析受試者之人數有 16 例，所佔比例總納入受試者之 30%，其中 4 例被判定為 TB drug-induced hepatotoxicity 的患者，有 3 例均屬於 rs1961456*rs1799931 之高風險群，高風險群之肝毒性副作用發生率為 18.8% (3/13)，顯著高於低風險組之 2.7% (1/37)，其風險比為低風險組之 8.31 倍 ($p<0.05$)，此

前瞻性試驗的結果驗證了過去的回溯性分析結果，並顯示，結核病患者若為帶有 rs1961456*rs1799931 變異之高風險基因型組合，其發生肝毒性副作用的風險會顯著增加，較低風險族群高出 8.3 倍，其發生肝副作用的人數比例由低風險之 2.7% 提高為 18.8%。而由過去累計的分析結果可知，屬於此高風險族群之結核病患者約佔總患者人數之 30%。

除了 rs1961456*rs1799931 之組合之外，我們也在此次的前瞻性試驗結果中，發現帶有 rs1799931 * rs2087852 或是 rs1799931 * rs11996129 之高風險基因型組合亦顯著的增加肝毒性副作用的風險達 10 倍以上($p < 0.05$)，這是過去的分析結果未曾發現的組合。其中，帶有 rs1799931 * rs2087852 高風險基因型之人數有 14 例，佔總納入受試者人數為 27%，其中發生肝副作用者有 3 例，發生率為 21.4% (3/14)，顯著高於低風險之 2.6% (1/38)。帶有 rs1799931 * rs11996129 高風險基因型之人數有 13 例，佔總納入受試者人數為 26%，其中發生肝副作用者有 3 例，發生率為 23.1% (3/13)，亦顯著高於低風險之 2.7% (1/37)。此結果顯示 rs1799931 與 rs2087852 或 rs11996129 之基因型變異組合與肝毒性的發生率亦有相當的關連性，但過去累積 400 例以上的統計分析結果未能證實此關聯性，顯示可能因收案人數規模及肝毒性的發生率較低，故分析結果的變異性可能較高，未來若有機會持續累積增加收案人數，將有助於驗證此基因型組合之預測能力。然而，就現有的研究成果可知，帶有 rs1961456*rs1799931 變異之高風險基因型患者，在接受含 isoniazid 等第一線抗結核藥物治療過程中具有較高的風險發生肝毒性副作用，在治療過程中檢測此 NAT2 基因型將有助於臨床醫師留意患者服用藥物的情形，減少因副作用導致的順從性不佳、服藥中斷等問題，提高結核病的控制率。

以血清轉胺酶 Serum transaminases 量化指標評估高風險基因型患者發生肝副作用之影響

進一步以結核病患者於開始服用藥物前與服藥過程中血清轉胺酶 AST 及 ALT 的變化情形進行評估，我們發現一共有 4 種 SNPs 基因型組合的高風險族群，其整體發生血清轉胺酶升高的情形顯著與低風險組具有顯著差異，分別為 rs1961456 * rs1799931、rs1799931 * rs2087852、rs1799931 * rs1041983 及 rs1799931 * rs11996129 (詳見表四十一)。其中，帶有 rs1961456 * rs1799931 高風險基因型族群之血清 ALT 變化之平均值(Mean of peak value)顯著高於低風險族群 (43.7 ± 23 vs. 29 ± 18 , $p < 0.05$)，而帶有 rs1799931 * rs1041983 或 rs1799931 * rs11996129 的高風險族群，則為血清 AST 變化之平均值顯著高於低風險族群。而帶有 rs1799931 * rs2087852 高風險基因型之族群，其血清 AST 及 ALT 之變化平均值均顯著高於低風險族群。雖然此統計結果與臨床上發生肝副作用患者之血清 AST、ALT 變化值可能係為偏態分布(Skewed distribution)所導致的差異，然而亦有文獻指出，NAT2 的基因型變異可能可以做為代謝酵素活性表現行之代理指標，高風險族群所表現之不同的代謝酵素活性亦可能藉由影響藥物代謝，進而影響肝毒性副作用的發生情形。此外，ALT (Alanine Aminotransferase)於評估肝臟損傷時較 AST 更具專一性，由此可知，帶有 rs1961456 * rs1799931 或 rs1799931 * rs2087852 高風險基因型之 TB 患者，在服用抗結核藥物過程中，發生血清轉胺酶指數上升之情形較低風險患者來得顯著，較容易發生肝臟損傷。

肆、結論

2.2.1 新穎抗結核病複方製劑之研究與開發

1. 已開發多種四合一抗結核病藥物製劑，並選擇較具潛力配(RIP1013T)方與國內符合 PIC/S 藥廠合作，完成 biobatch 製造並生產可提供人體試驗之臨床用藥，此臨床用藥亦符合製藥相關規範。(因藥廠於 8 月 12 日至 8 月 26 日接受美國 FDA 查核，以致 biobatch 製造略受延誤)
2. 各處方製劑均完成相關藥化性質測試(包括含量分析、均一度試驗、崩散試驗、安定性分析及溶離度試驗等)。
3. 選擇最具潛力配方(RIP1013T(Qstar))於今年 11 月份完成 40 人次人體臨床試驗。(預計 11/5、6 進行第一期試驗；11/19、20 進行第二期試驗)
4. 預計 12 月分完成分析及統計。
5. 本案已於 100 年 8 月 29 日共建至 TFDA，進行新藥查驗登記。

2.2.2 開發無肝副作用抗結核藥物 Isoniazid 製劑

4. 併用 HUCHE033 360 mg 於健康受試者體內有抑制 amidase 活性之作用，為降低 INH 肝毒性可能機轉之一。
5. 同時併用 HUCHE033 360 mg 及 HUCHE010 110 mg，並不會影響 INH/RIF 原型藥之吸收，但在體內可能有抑制 amidase 使得其毒性代謝物減少，並有加乘的作用。未來在持續進行無肝副作用 isoniazid 臨床試驗時，此處方為目前最佳的選擇。

2.2.3 應用代謝酵素抑制劑解決抗結核藥物 Pyrazinamide 肝副作用之研究

本計畫利用常用賦型劑及食品已知成份篩選體外有效 amidase 抑制劑 HUCHE033，試驗證實體外有效 PZA 相關代謝酵素抑制劑 HUCHE033 於健康受試者能有效降低 PZA 毒性代謝物 5-OH-PA (ratio of plasma AUC with 5-OH-PA / PZA: 5.92 ± 1.13 to 3.60 ± 0.43 , $p < 0.01$) 與 PA (ratio of plasma AUC with PA / PZA: 28.23 ± 3.60 to 21.35 ± 3.20 , $p < 0.01$) 比率，顯示 HUCHE033 於人體內仍具抑制 amidase 效果，且可降低 5-OH-PA/PZA 或 PA/PZA 等毒性代謝物比例，推論 HUCHE033 在人體內可能具降低 PZA 藥物肝毒性潛力；本實驗室研發之 amidase 抑制劑皆為本實驗室已申請台灣專利(申請號:ROC/097141522)之成份，普遍富含於食品、天然物之成分或常用之賦型劑，其安全性無虞。

分析 107 位 TB 患者尿液檢品，經藥歷資料確認是否服用 PZA 後，未服用 PZA 與檢品藥物濃度低於偵測極限共排除 22 位，而服用 PZA 且具肝毒性有 24 位，無肝毒性有 61 位，結果經原藥物 PZA 規格化後，顯示服用 PZA 且為肝毒性患者尿液中 5-OH-PA 比例明顯高於無肝毒性患者(5-OH-PA/PZA: 209.2 ± 78.5 to 34.0 ± 29.7 , $p < 0.005$)，顯示服用 PZA 有肝毒性患者尿液中 5-OH-PA/PZA 比例，會隨著肝毒性嚴重性而增加，即有肝毒性患者 PZA 可能被代謝較多，導致尿液中含量減少，未來可持續擴增 TB 患者收案增加養本數。

PZA 另一代謝酵素 xanthine oxidase (XO)具基因多型性(gene polymorphism)，對其酵素活性會產生顯著影響，在 XO 酵素活性高的個體中，患者易生 Xanthinuria 症狀的風險；相對在 XO 酵素活性低的個體中，氧化反應慢，使得 PZA 累積在體內而導致毒性或副作用，造成此差異的主要原因係因基因型變異所導致，因此，瞭解 XO 酵素基因型於國人的表現在治療國人結核病上是有其一定程度的必要性。目前已分析完成 167 位 TB 患者基因試樣，已分析完成 XO 5 種 SNP 之結果，發現有 3 種單一核苷酸發生變異(SNP)，

由 TB 患者 XO 基因型與 PZA 藥物肝毒性關係已找到 SNP rs1884725、rs2295475 與 PZA 藥物引起肝毒性風險比(Odds ratio)各是 5.372 ($p = 0.002$)、12.964 ($p = 0.000$)有顯著關係，顯示 XO 基因多型性與 PZA 肝毒性有程度上之關聯性。未來可針對上述 3 個 SNP 持續增加收案數，或針對 XO 酵素活性區或基質催化結合區序列，找尋其他可能與 PZA 藥物副作用相關之 SNP 進行分析，甚至可進行 XO 代謝酵素基因型與表現型之分析 (genotype/ phenotype correlation)。

2.2.4 以代謝酵素基因型預防 Isoniazid 及 Rifampin 所產生之副作用

1. 以 CYP2E1 與 NAT2 SNP 基因型進行 multi-points 組合分析以進一步評估高肝副作用風險之基因組合，我們發現以 CYP2E1 rs2249695 之 Wild type 與 NAT2 rs1799931 之變異型之組合具有最高的風險比，為低風險族群之 12.571 倍，並具有顯著差異 ($p < 0.05$)。然而因人數比例較低(2%)，故此風險組合較不適用於作為前瞻性試驗之基因型分組方法。以過去之研究為基礎，進一步發現若帶有 7 個 NAT2 單一核苷變異其中任一個 SNP 之 TB 病人，其服用抗結核藥物誘發肝毒性的風險，顯著高於未帶這 7 個 SNPs 之 TB 病人達到 1.8 到 10.3 倍。
2. 進一步以 7 個 NAT2 單一核苷變異進行任兩個以上基因型之排列組合後，建立顯著提高風險之高風險基因型組合，發現至少有 8 種組合會顯著的提升抗結核藥物之肝毒性副作用風險，以帶有 rs1961456 或 rs1799931 變異基因型之組合具有最高風險比 (Odds ratio)，可達 4.1 倍 ($p < 0.001$)，其人數比例約佔全體患者之 26%，而在高風險族群中，實際發生肝毒性副作用的比例為 36% (81 例中有 29 例發生肝毒性)，為低風險族群發生率 12% 之 3 倍，而風險比則為低風險組之 4.1 倍 ($p < 0.001$)。
3. 以前瞻性試驗的方式，將新接受治療之結核病患者納入追蹤觀察，以驗證高風險基因型預測肝副作用發生率之情形，結果顯示帶有 rs1961456 * rs1799931 高風險基因組合之患者，發生肝副作用的比例顯著高於低風險族群(18.8% vs. 2.7%)，風險比亦高達 8.3 倍 ($p < 0.05$)。此結果與過去累積之研究成果相符，顯示以 rs1961456 * rs1799931 基因型組合預測 TB 患者因抗結核藥物誘發肝毒性的風險性具有代表性。
4. 前瞻性臨床試驗亦發現帶有 NAT2 高風險基因型組合之患者，在接受抗結核藥物治療過程中之血清轉胺酶 AST、ALT 之變化情形與低風險組有顯著的不同，進一步證實代謝酵素 NAT2 基因型與肝毒性發行情形有關。
5. 對使用含 INH 藥物之病人，應篩檢高肝副作用風險之代表性基因組合 rs1961456 及 rs1799931，若確定結核病患屬高肝副作用風險病患則應密切觀察其肝功能變化，另外，也可使用低肝副作用 INH 複方，避免病人因肝副作用停藥而增加抗藥性的風險。

伍、討論與目標

2.2.1 新穎抗結核病複方製劑之研究與開發

本年度研究目標為進行正式人體臨床試驗，為達此目的，本實驗室已購買於歐盟核准上市之對照藥(Rimstar)；申請三軍總醫院人體試驗委員會之人體試驗核准同意函，並與國內符合PIC/S藥廠合作研發複方四合一抗結核病藥物雙層錠的處方。今年度已修正處方，並檢驗其相關藥化性質(包括含量分析、均一度試驗、崩散試驗、安定性分析及溶離試驗等)及完成共動物(狗)預試驗。由動物試驗結果篩選潛力配方(RIP111013T)，進行biobatch製造並生產可提供人體試驗之臨床用藥，此臨床用藥亦符合製藥相關規範。本年度人體試驗預計至少完成36人次，本實驗室預計11月完成生體相等性臨床人體試驗，目前正準備進行檢品分析。本實驗室已建立之LC/MS/MS之分析方法，可於人類及狗血漿中一次分析四種藥品成分，且於使用的含量範圍內線性關係良好，可加速結果的研判。為確保分析方法的穩定性，為確保分析方法的穩定性，於人體試驗檢品分析前亦本試驗於人體試驗檢品分析前已完成完整的確效分析，包括精密度、準確性、線性、最小偵測濃度、最小定量濃度等，相關結果如表四至八所示。精密度試驗：如成果報告表五所示，在線性範圍內取4個濃度來監控分析的精密度，每一濃度分析6次，各濃度變異係數小於均15%。準確性試驗：如表四所示，在線性範圍內取4個濃度來監控分析的精密度，每一濃度分析3次，各濃度與預期濃度相較，其差異均小於均15%。標準曲線：各成份(isoniazid、rifampicin、pyrazinamide及ethambutol)於預期樣品濃度範圍製備7個濃度(pyrazinamid：0.2~20 $\mu\text{g/ml}$ ；rifampicin：0.1~10 $\mu\text{g/ml}$ ；isoniazid、ethambutol：0.05~5 $\mu\text{g/ml}$)， r^2 均大於0.99，如表五所示。最小偵測濃度依據預期樣品濃度而設定pyrazinamid：0.2 $\mu\text{g/ml}$ ；rifampicin：0.1 $\mu\text{g/ml}$ ；isoniazid、ethambutol：0.05 $\mu\text{g/ml}$ ，如表四所示。安定性試驗部分亦進行5項安定性之，包括：間/同日內安定性分析、短期室溫安定性、分析期間安定性、冷凍解凍安定性之分析，如表四至八所示。

本實驗室過去四年，已開發出多種配方製劑，經動物及人體臨床試驗結果分析後，目前認為批號RIP111013T試製成品為潛力成品。經審慎評估後預計於今年(100年)11月完成RIP111013T及Rimstar共36人次兩期、交叉性人體臨床試驗。依據此人體臨床試驗結果，預期未來可開發出目前國內市場仍缺的四合一抗結核病第一線藥物。甚至進一步嘗試修改處方，朝減少服用錠劑顆數，即可達體內治療濃度，提升病人服藥順服性及舒適性的方向研發；另外也將利用已建立開發的製藥平台，與減少副作用藥物或治療其他疾病(如：愛滋病等)的藥物結合的方向研發。

本研究已順利達成的預期目標：

1. 已開發多種四合一抗結核病藥物製劑，並選擇較具潛力配(RIP1013T)方與國內符合PIC/S藥廠合作，完成biobatch製造並生產可提供人體試驗之臨床用藥，此臨床用藥亦符合製藥相關規範。
2. 各處方製劑均完成相關藥化性質測試(包括含量分析、均一度試驗、崩散試驗、安定性分析及溶離度試驗等)。
3. 選擇最具潛力配方(RIP1013T(Qstar))於今年11月份完成40人次人體臨床試驗。
4. 預計12月份完成分析及統計。
5. 本案已於100年8月29日共建至TFDA，進行新藥查驗登記。

2.2.2 開發無肝副作用抗結核藥物 Isoniazid 製劑

不同處方之低副作用Isoniazid劑型於健康受試者體內藥動學研究中，isoniazid及

rifampin併用HUCHE033 360 mg組於健康受試者血液中可觀察到INH與其經Amidase代謝之代謝物 Isonicotinic acid 其Cmax顯著低於控制組，顯示抑制Amidase可能是HUCHE033於體內有效降低INH/RIF肝毒性的可能作用機轉之一。而併用HUCHE010 110 mg組雖然在INH及其代謝物的各項藥動學參數上，皆無顯著與控制組不同，但是若是同時併用HUCHE033 360 mg和HUCHE010 110 mg，將可顯示出比單獨併用HUCHE033 360 mg組更強的Amidase抑制效果，此一現象可由AUCinfinity的降低幅度得到佐證，這顯示HUCHE033與HUCHE010同時併用對Amidase的抑制作用有協同的效果，由文獻上得知HUCHE010可增加HUCHE033的口服吸收，這可能是造成此一協同作用的機轉。

另外單獨或同時併用HUCHE033 360 mg及HUCHE010 110 mg對於isoniazid/rifampin血中濃度及各項藥動學參數影響皆不顯著。

由不同處方之低副作用Isoniazid劑型於健康受試者體內對CYP2E1活性及相關指標影響研究中發現，在isoniazid/rifampin存在下，同時併用Chlorzoxazone和HUCHE033 360 mg或HUCHE010 110 mg，血液中Chlorzoxazone和經CYP2E1代謝之代謝物6-OH Chlorzoxazone之濃度及要動學參數皆無顯著改變。此一結果與前期成果有所差異，前期計畫中，在isoniazid單獨存在下，同時併用Chlorzoxazone和HUCHE033 180 mg，於健康受試者體內有顯著抑制CYP2E1的現象。造成此一差異的原因可能為併用rifampin在體內會誘導CYP2E1的活性，造成受試者體內的CYP2E1的活性比單獨服用isoniazid時高，故需要更高劑量的CYP2E1抑制劑才能達到抑制的效果。

2.2.3 應用代謝酵素抑制劑解決抗結核藥物 Pyrazinamide 肝副作用之研究

(一) TB臨床患者尿液檢品收集與尿液分析PZA及其代謝物濃度

針對臨床病人服用抗結核藥複方，收集服藥後之尿液檢品分析，至今計有107位尿液檢品經HPLC分析PZA及其代謝物含量。經藥歷資料確認是否服用PZA後，未服用PZA與檢品藥物濃度低於偵測極限共排除22位，而服用PZA且具肝毒性有24位，無肝毒性有61位，結果經以原型藥物PZA為分母進行規格化後，顯示5倍肝毒性患者尿液中5-OH-PA比例明顯高於2倍肝毒性與無肝毒性患者(5-OH-PA/PZA: 523.6 ± 79.6 to 128.9 ± 20.1 or 49.0 ± 6.3 , $p < 0.005$)，2倍肝毒性患者尿液中5-OH-PA比例亦明顯高於無肝毒性患者(5-OH-PA/PZA: 128.9 ± 20.1 to 49.0 ± 6.3 , $p < 0.005$)，代表服用PZA有肝毒性患者尿液中5-OH-PA/PZA比例，會隨著肝毒性嚴重性而增加，即有肝毒性患者PZA可能被代謝較多，導致尿液中含量減少。另外5倍肝毒性患者尿液中PA比例明顯高於無肝毒性患者(PA/PZA: 46.3 ± 15.0 to 10.7 ± 1.5 , $p < 0.005$)，2倍肝毒性患者尿液中PA比例亦明顯高於無肝毒性患者(PA/PZA: 32.7 ± 7.3 to 10.7 ± 1.5 , $p < 0.005$)，表示服用PZA有肝毒性患者尿液中PA/PZA比例，會隨著肝毒性嚴重性而增加。PZA肝毒性與其代謝物如PA及5-OH-PA的多寡有關。

(二) 評估PZA相關代謝酵素xanthine oxidase不同基因型造成肝毒性之風險，並進行PZA毒性代謝物相關性分析

XO不同基因型與PZA藥物肝毒性風險試驗，已分析完成167位TB患者基因試樣，已分析完成XO 5種SNP之結果，發現有3種單一核苷酸發生變異(SNP)，各是rs1884725、rs2295475、rs17011368，其中SNP rs1884725、rs2295475與PZA藥物引起肝毒性風險比(Odds ratio)各是5.372 ($p = 0.002$)、12.964 ($p = 0.000$)，結果如表四所示。顯示當具有xanthine oxidase rs1884725 GA或AA genotype (G表wildtype allele、A表mutant allele)，使用抗結核藥PZA產生肝毒性機率比具有xanthine oxidase GG genotype來得高(Odds ratio:

5.372, $p = 0.002$)；在rs2295475 GA或AA genotype亦有相同趨勢(G表wildtype allele、A表mutant allele)，比xanthine oxidase GG genotype具有較高肝毒性發生率(Odds ratio: 12.964, $p = 0.000$)，顯示具rs1884725與rs2295475 突變型對偶基因患者較野生型具較高PZA肝毒性風險，此結果可給予醫師未來在給TB患者PZA用藥處方上之建議與參考；而rs17011368不同基因型與PZA肝毒性風險無關，但就目前收案分析結果來看，不同於rs1884725，rs2295475 genotype結果，rs17011368是TT genotype (T表wildtype allele、C表mutant allele)可能較TC或CC genotype具較高肝毒性發生率，rs17011368 wildtype genotype之TB患者可能具較高肝毒性風險。

(三) PZA代謝酵素基因型於國人發生頻率之研究

完成167位TB患者xanthine oxidase 5個SNP allele frequency分析，其中 rs1884725與2295475的 allele frequency，wild-type /mutant allele 的分佈各是72.5/27.5與51.5/48.5百分比，而在 genotype 分佈上各是 wildtype 72.5%與51.5%，heterozygous mutant 25.1%與38.8%及 homozygous mutant 2.4%與9.7%；而rs17011368，wild-type /mutant allele 的分佈各90.4/9.6百分比，在 genotype 分佈上各是 wildtype 90.4%與heterozygous mutant 9.6%，在這次樣本中未發現homozygote genotype；另外，在rs566352與rs72549369 allele frequency分析，在這次樣本中僅發現wildtype genotype而無找到任何mutant genotype。

(四) PZA併服或不併服相關代謝酵素抑制劑於健康受試者體內之藥動學研究

PZA併服不併服HUCHE033，PZA藥物與其相關代謝物於健康受試者體內藥動學試驗，結果顯示併服HUCHE033對PZA於健康受試者體內的藥物動力學影響並不顯著，並能有效降低PZA毒性代謝物5-OH-PA (AUC: 7.41 ± 0.73 to 5.42 ± 0.72 , $p < 0.01$)，amidase抑制率約25%。經PZA 規格化，將PZA代謝物5-OH-PA、PA、5-OH-PZA各別除以PZA原藥物曲線下面積(AUC, area under the curve)比值，為metabolic ratio，如表八所示，結果顯示HUCHE033能有效降低PZA毒性代謝物5-OH-PA (ratio of plasma AUC with 5-OH-PA / PZA: 5.92 ± 1.13 to 3.60 ± 0.43 , $p < 0.01$)與PA (ratio of plasma AUC with PA / PZA: 28.23 ± 3.60 to 21.35 ± 3.20 , $p < 0.01$)比率，amidase抑制率約39%，顯示HUCHE033於人體內可能仍具抑制amidase效果，且可降低5-OH-PA/PZA或PA/PZA等毒性代謝物比例，推論HUCHE033在人體內可能具降低PZA藥物肝毒性潛力，未來可進一步利用該資料開發低副作用PZA新劑型，改善PZA肝毒性副作用，提高TB患者服用PZA藥物的順從性。

2.2.4 以代謝酵素基因型預防 Isoniazid 及 Rifampin 所產生之副作用

我們以過去累積超過400例之結核病患者基因型檢驗結果與臨床資料分析，找到了7個 NAT2 SNPs在TB drug-induced hepatotoxicity有顯著的相關性，結果發現若帶有此7個 NAT2 SNPs其中任一個SNP之TB病人，其服用抗結核藥物誘發肝毒性的風險顯著高於未帶這7個SNPs之TB病人達到1.8到10.3倍。並顯示在整體的結核病患者族群中有12~29%的TB患者，是屬於服用抗結核藥物誘發肝毒性的高風險群。且在高風險族群患者中，有32~37%的比例會發生肝毒性副作用，顯著高於低風險族群的發生率(12~16%, $p < 0.001$)。此一成果不但是首次建立國人族群之基因型分布情形，亦為全球結核病相關研究之最新進展。未來在臨床醫師對結核病患者的治療過程中，只要對患者進行少數NAT2基因型的檢測分析，即可有效預測患者在接受含Isoniazid等抗結核藥物的治療過程中，是否為容易誘發藥物肝毒性副作用的族群，將有助於臨床醫師留意患者服用藥物的情形，減少

因副作用導致的順從性不佳、服藥中斷等問題，提高結核病的控制率。且以rs1961456*rs1799931之組合在高低風險組間具有最高的發生率差異與風險比(12% vs. 36%, odd ratio = 4.131)，僅需分析2個位點之基因變異，對於未來臨床應用或開發快速檢驗測試晶片或試劑具有較佳的競爭優勢。顯示以此兩種SNP組合方式作為預測結核病患者服用抗結核藥物後發生肝毒性之風險，具有最佳的代表性，同時亦具有較佳之成本效益(cost-effectiveness)。然而，對於整體約18%的肝副作用發生率而言，該基因型組合僅能預測約26%的患者為高風險族群，高風險族群之肝副作用發生率為36%，而仍有近半數發生肝副作用的患者未能預測為高風險族群，顯示此基因組合尚有改進的空間，未來若能持續對影響藥物誘發肝毒性的相關因子進行分析，經有助於準確預測高毒性副作用的發生率，提高治療的效益並達成有效的結核病防治目標。

陸、参考文献

1. Maher D, Chaulet P, Spinaci S, et al. Treatment of tuberculosis: guidelines for National Programmes, World Health Organization. Geneva: World Health Organization. Communicable Diseases Cluster, 1997. WHO Document no. WHO/TB/97.220.
2. World Health Organization, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. The promise and reality of fixed-dose combinations with rifampicin: a joint statement of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease and the Tuberculosis Programme of the World Health Organization. *Tuber Lung Dis.* 1994; 75 (3): 180-181.
3. World Health Organization, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Assuring bioavailability of fixed- dose combinations of antituberculosis medication: a jointstatement of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease and the World Health Organization. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999; 3 (11 Suppl.): S282-283.
4. Blomberg B., et al. The rationale for recommending fixed-dose combination tablets for treatment of tuberculosis. *Bull World Health Organ.* 2001; 79 (1): 61-68.
5. Dye C., et al. Worldwide incidence of multidrug-resistant tuberculosis. *J Infect Dis.* 2002; 185: 1197-1202.
6. Dye C., et al. Erasing the world's slow stain: strategies to beat multidrug-resistant tuberculosis. *Science.* 2002; 295: 2042-2046.
7. Bastian I., et al. Treatment and prevention of multidrug-resistant tuberculosis. *Drugs.* 1999; 58: 633-661.
8. Telenti A., et al. Drug-resistant tuberculosis: what do we do now? *Drugs.* 2000; 59: 171-179.
9. Essential drugs. WHO Model List (revised December 1999) *WHO Drug Information.* 1999; 13: 249-262.
10. The use of essential drugs: ninth report of the WHO Expert Committee (including the revised Model List of Essential Drugs). Geneva: World Health Organization, 2000. ReportNo.: WHO Technical Report Series, No. 895.
11. Combs DL., et al. USPHS Tuberculosis Short-Course Chemotherapy Trial 21: effectiveness, toxicity, and acceptability: the report of final results. *Ann Intern Med.* 1990; 112: 397-406.
12. Geiter L J., et al. United States Public Health Service Tuberculosis Therapy Trial 21: preliminary results of an evaluation of a combination tablet of isoniazid, Rifampicin and pyrazinamide. *Tubercle.* 1987; 68: 41-46.
13. Singapore Tuberculosis Service/British Medical Research Council. Assessment of a daily combined preparation of isoniazid, Rifampicin, and pyrazinamide in a controlled trial of three 6-month regimens for smear- positive pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis.* 1991; 143: 707-712.
14. Teo SK. Assessment of a combined preparation of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide (Rifater) in the initial phase of chemotherapy in three 6- month regimens for smear-positive pulmonary tuberculosis: a five-year follow-up report. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999; 3: 126-132.
15. Blomberg B., et al. Informal consulta consultation on 4-drug fixed-dose combinations compliant with the WHO Model List of Essential Drugs. Geneva, Switzerland, 15-17 August 2001. Geneva: UNDP, World Bank, WHO Special Programme for Research & Training in Tropical Diseases (TDR); 2002. Report No.: TDR/TB/02.1, WHO/CDS/TB/2002.99.
16. McIlleron H., et al. Widespread distribution a single drug rifampicin formulation of inferior bioavailability in South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2002; 6: 356-361.
17. Blomberg B., et al. Availability of qualityfixed-dose combinations for the treatment of tuberculosis: what can we learn from studying the World Health Organiza-tion's vaccine

- model? *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999; 3: 371-380, discussion 381-387.
18. Fourie PB., et al. Model Protocol: establishing the bioequivalence of rifampicin in fixed-dose formulations containing isoniazid with or without pyrazinamide and/or ethambutol compared to the single drug reference preparations administered in loose combination. Geneva: World Health Organization, 1999. Report No.: Unpublished document WHO/CDS/TB/99.274
 19. Quality assurance: protocol for assessing the rifampicin bioavailability of combined formulations in healthy volunteers. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999; 3: 284-285.
 20. Fourie PB., et al. Structures required, roles and responsibilities in maintaining laboratories for quality assurance of anti-tuberculosis fixed-dose combinations in accordance with the IUATLD/WHO statement. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999; 3: 368-370, discussion 381-387.
 21. Ellard GA. The evaluation of rifampicin bioavailabilities of fixed-dose combinations of anti-tuberculosis drugs: procedures for ensuring laboratory proficiency. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999; 3: 322-324.
 22. Bjorn Blomberg., et al. Fixed-Dose Combination Drugs for Tuberculosis: Application in Standardised Treatment Regimens. *Drugs.* 2003; 63: 535-553.
 23. Saranjit Singh., et al. A critical review of the probable reasons for the poor/variable bioavailability of rifampicin from anti-tubercular fixed-dose combination (FDC) products, and the likely solutions to the problem. *Int J Pharm.* 2001; 228: 5-17.
 24. Seifart, H.I., et al. Stability of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide in suspensions used for the treatment of tuberculosis in children. *Pediatr. Infect. Dis.* 1991; 10: 827-831.
 25. Singh, S., et al. The reason for an increase in decomposition of rifampicin in the presence of isoniazid under acid conditions. *Pharm. Pharmacol. Commun.* 2000; 6: 405-410.
 26. Singh, S., et al. A pilot stability study on four-drug fixed-dose combination anti-tuberculosis products. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003; 7: 298-303.
 27. Hemant Bhutani., et al. The physical and chemical stability of anti-tuberculosis fixed-dose combination products under accelerated climatic conditions. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004; 8: 1073-1080.
 28. Hemant Bhutani., et al. An Explanation for the Physical Instability of a Marketed Fixed Dose Combination (FDC) Formulation Containing Isoniazid and Ethambutol and Proposed Solutions. *Drug Dev Ind Pharm.* 2004; 30: 667-672.
 29. Hemant Bhutani., et al. Behavior of uptake of moisture by drugs and excipients under accelerated conditions of temperature and humidity in the absence and the presence of light. Part II. Packaged and unpackaged anti-tuberculosis drug products. *Pharm. Technol.* 2003; 27: 44-52.
 30. Devani, M.B., et al. Kinetic studies of the interaction between isoniazid and reducing sugars. *J. Pharm. Sci.* 1985; 74: 427-432.
 31. Kopanoff DE et al., Isoniazid-related hepatitis: a U.S. Public Health Service cooperative surveillance study. *Am. Rev Respir Dis* 1978;117: 991-1001.
 32. Nolan CM et al., Hepatotoxicity associated with isoniazid preventive therapy: a 7-year survey from a public health tuberculosis clinic. *JAMA* 1999; 281: 1014.
 33. Steele MA et al., Toxic hepatitis with isoniazid and rifampin: A meta-analysis. *Chest.* 1991; 99: 465.
 34. Sarich TC, Youssefi M, Zhou T, Adams SP, Wall RA, Wright JM. Role of hydrazine in the mechanism of isoniazid hepatotoxicity in rabbits. *Arch Toxicol* 1996; 70: 835-840.
 35. Yue J, Peng RX, Yang J, Kong R, Liu J. CYP2E1 mediated isoniazid-induced hepatotoxicity in rats. *Acta Pharmacol Sin.* 2004; 25: 699-704.
 36. Sarich TC, Adams SP, Petricca G, Wright JM. Inhibition of isoniazid-induced hepatotoxicity in rabbits by pretreatment with an amidase inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999; 289: 695-702.

37. Lee SS, Buters JT, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Gonzalez FJ. Role of CYP2E1 in the hepatotoxicity of acetaminophen. *J Biol Chem* 1996; 271: 12063-12067.
38. Wong FW, Chan WY, Lee SS. Resistance to carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice which lack CYP2E1 expression. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1998; 153: 109-118.
39. Ramaiah SK, Apte U, Mehendale HM. Cytochrome P4502E1 induction increases thioacetamide liver injury in diet-restricted rats. *Drug Metab Dispos.* 2001; 29: 1088-1095.
40. Huang YS, Chern HD, Su WJ, Wu JC, Chang SC, Chiang CH, Chang FY, et al. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology* 2003; 37: 924-930.
41. Guengerich FP, Kim DH, Iwasaki M. Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chem Res Toxicol.* 1991; 4: 168-179.
42. Hunter AL, Neal RA. Inhibition of hepatic mixed-function oxidase activity in vitro and in vivo by various thiono-sulfur-containing compounds. *Biochem Pharmacol.* 1975; 24: 2199-2205.
43. Brady JF, Xiao F, Wang MH, Li Y, Ning SM, Gapac JM, Yang CS. Effects of disulfiram on hepatic P450IIE1, other microsomal enzymes, and hepatotoxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1991; 108: 366-373.
44. Sodhi CP, Rana SV, Mehta SK, Vaiphei K, Attari S, Mehta S. Study of oxidative-stress in isoniazid-rifampicin induced hepatic injury in young rats. *Drug Chem Toxicol* 1997; 20: 255-269.
45. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ, 2nd. A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990; 87: 9383-9387.
46. Morrow JD. The isoprostanes: their quantification as an index of oxidant stress status in vivo. *Drug Metab Rev.* 2000; 32: 377-385.
47. Devaraj S, Hirany SV, Burk RF, Jialal I. Divergence between LDL oxidative susceptibility and urinary F(2)-isoprostanes as measures of oxidative stress in type 2 diabetes. *Clin. Chem.* 2001; 47: 1974-1979.
48. Helmersson J, Basu S. F₂-isoprostane excretion rate and diurnal variation in human urine. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 1999; 61: 203-205.
49. Morrow JD, Roberts LJ, 2nd. Mass spectrometric quantification of F₂-isoprostanes in biological fluids and tissues as measure of oxidant stress. *Methods Enzymol.* 1999; 300: 3-12.
50. Li H, Lawson JA, Reilly M, Adiyaman M, Hwang SW, Rokach J, FitzGerald GA. Quantitative high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric analysis of the four classes of F(2)-isoprostanes in human urine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999; 96: 13381-13386.
51. Liang Y, Wei P, Duke RW, Reaven PD, Harman SM, Cutler RG, Heward CB. Quantification of 8-iso-prostaglandin-F_{2α} and 2,3-dinor-8-iso-prostaglandin-F_{2α} in human urine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Free Radic. Biol. Med* 2003; 34: 409-418.
52. Carlisle R, Galambos JT, Warren WD. The relationship between conventional liver tests, quantitative function tests, and histopathology in cirrhosis. *Dig. Dis. Sci.* 1979; 24: 358-362.
53. Herold C, Heinz R, Niedobitek G, Schneider T, Hahn EG, Schuppan D. Quantitative testing of liver function in relation to fibrosis in patients with chronic hepatitis B and C. *Liver* 2001; 21: 260-265.

54. Keiding S, Johansen S, Tonnesen K. Kinetics of ethanol inhibition of galactose elimination in perfused pig liver. *Scand J. Clin. Lab Invest.* 1977; 37: 487-494.
55. Keiding S, Johansen S, Winkler K. Hepatic galactose elimination kinetics in the intact pig. *Scand J. Clin. Lab Invest.* 1982; 42: 253-259.
56. Lindskov J. The quantitative liver function as measured by the galactose elimination capacity. I. Diagnostic value and relations to clinical, biochemical, and histological findings in patients with steatosis and patients with cirrhosis. *Acta Med. Scand.* 1982; 212: 295-302.
57. Tang HS, Hu OY. Assessment of liver function using a novel galactose single point method. *Digestion* 1992; 52: 222-231.
58. Hu OY, Tang HS, Chang CL. The influence of chronic lobular hepatitis on pharmacokinetics of cefoperazone--a novel galactose single-point method as a measure of residual liver function. *Biopharm Drug Dispos* 1994; 15: 563-576.
59. Hu OY, Hu TM, Tang HS. Determination of galactose in human blood by high-performance liquid chromatography: comparison with an enzymatic method and application to the pharmacokinetic study of galactose in patients with liver dysfunction. *J. Pharm. Sci.* 1995; 84: 231-235.
60. Hu OY, Tang HS, Sheeng TY, Chen TC, Curry SH. Pharmacokinetics of promazine in patients with hepatic cirrhosis--correlation with a novel galactose single point method. *J. Pharm. Sci.* 1995; 84: 111-114.
61. FDA Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Pharmacokinetics in patients with impaired hepatic function: Study design, data analysis, and impact on dosing and labeling. Guidance for Industry, U.S. Department of Health and Human Service. 2003 pp5.
62. Tygstrup N. The Galactose Elimination Capacity in Control Subjects and in Patients with Cirrhosis of the Liver. *Acta Med. Scand* 1964; 175: 281-289.
63. Ryan DE, Ramanathan L, Iida S, Thomas PE, Haniu M, Shively JE, Lieber CS, et al. Characterization of a major form of rat hepatic microsomal cytochrome P-450 induced by isoniazid. *J. Biol. Chem.* 1985; 260: 6385-6393.
64. Ekstrom G, Ingelman-Sundberg M. Rat liver microsomal NADPH-supported oxidase activity and lipid peroxidation dependent on ethanol-inducible cytochrome P-450 (P-450IIE1). *Biochem. Pharmacol.* 1989; 38: 1313-1319.
65. 35. Sodhi CP, Rana SV, Mehta SK, Vaiphei K, Attri S, Thakur S, Mehta S. Study of oxidative stress in isoniazid-induced hepatic injury in young rats with and without protein-energy malnutrition. *J Biochem Toxicol.* 1996; 11: 139-146.
66. PDR, 2000.
67. Jasmer RM and Daley CL. Rifampin and Pyrazinamide for treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*, **2003**, 167, 809-812.
68. Stout JE, et al., Safety of 2 months of rifampin and pyrazinamide for treatment of latent tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*, **2003**, 167, 824-827.
69. Whitehouse LW, et al., Metabolic disposition of pyrazinamide in the rat: identification of a novel in vivo metabolite common to both rat and human. *Biopharm & Drug Dispos.*, **1987**, 8, 307-318.
70. Ichida K, et al., Cloning of the cDNA encoding human xanthine dehydrogenase (oxidase): structural analysis of the protein and chromosomal location of the gene. *Gene.* **1993**, 133, 279-284.
71. Sakamoto N, et al., Identification of a new point mutation in the human xanthine dehydrogenase gene responsible for a case of classical type I xanthinuria. *Hum Genet.* **2001**, 108, 279-283.
72. Tostmann A, et al., Xanthine oxidase inhibition by allopurinol increases in vitro pyrazinamide-induced hepatotoxicity in HepG2 cells. *Drug Chem Toxicol.* **2010**, 33,

- 325-328.
73. Kudo M, et al., Functional characterization of human xanthine oxidase allelic variants. *Pharm Geno.* **2008**, 18, 243-251.
 74. Graham SM, et al., Ethambutol in tuberculosis: time to reconsider? *Arch Dis Child.* **1998**, 79, 274-278.
 75. Pal R., et al. Effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats. *World J Gastroenterol.* **2006**; 12: 636-9.
 76. Essential drugs. WHO Model List (revised December 1999) *WHO Drug Information.* **1999**; 13: 249-262.
 77. The use of essential drugs: ninth report of the WHO Expert Committee (including the revised Model List of Essential Drugs). Geneva: World Health Organization, 2000. ReportNo.: WHO Technical Report Series, No. 895. Available from <http://www.who.int/medicines/organization/par/edl/trs/trs895.shtml> [Accessed 2002 Aug 14]
 78. Rosazza, J.P., et. al. ed. Microbial transformations of bioactive compounds. CRC press, Boca Raton, FL., **1982**.
 79. Davis, P.J. Microbial models of mammalian drug metabolism. *Dev. Indust. Microbiol. (J. Indust. Microbiol. Suppl. No 3)*, **1988**, 29, 197-219.
 80. Azerad, R. Microbial models for drug metabolism. *Adv. Biochem. Eng./Biotech.*, **1999**, 63, 169-218.
 81. Faber, K. Biotransformations in Organic Chemistry: a textbook. 3rd ed., Springer-Verlag, Berlin, **1997**.
 82. Murray, H.C.; Peterson, D.H. Oxygenation of steroids by *Mucorales* fungi, US Pat. 2,602,769, **1952**.
 83. Peterson, D.H.; Murray, H.C. Microbiological oxygenation of steroids at carbon 11. *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, 74, 1871.
 84. Hildebrandt, C.; Klavehn, W., Ger. Pat. 548,459, **1930**.
 85. Reichstein, J.; Grossner, A.; Oppenauer, R. Synthesis der *d*- and *l*-ascorbinsäure (C-Vitamin). *Helv. Chim. Acta*, **1933**, 16, 1019-1033.
 86. Reichstein, J.; Grossner, A. Eine ergiebige Synthese der *l*-ascorbinsäure (C-Vitamin). *Helv. Chim. Acta*, **1934**, 17, 311-328.
 87. Holland, H.L. Bioconversions. *Biotechnol.*, **1992**, 21, 157-187.
 88. Mehri, H. Frusemide metabolism, immobilization and bioreactor studies using the fungus *Cunninghamella elegans*. In College of Pharmacy, The Univ. of Texas at Austin, Austin, US, **1993**.
 89. Huang, W.H. Application of comparative molecular field analysis for predicting microbial sulfoxidation. In College of Pharmacy, The Univ. of Texas at Austin, Austin, US, **2000**.
 90. Wainer, I.W. HPLC chiral stationary phases for the stereochemical resolution of enantiomeric compounds. 2nd ed., Marcel Dekker, Inc., **1993**.
 91. Cramer, R.D.I.; Patterson, D.E.; Bunce, J.D. Comparative molecular field analysis (COMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 5959-5967.
 92. Nasako, Y., Yamamoto, T., Moriwaki, Y., Takahashi, S., Tsutsumi, Z., Hada, T., Higashino, K. In vitro and in vivo study on the conversion of allopurinol and pyrazinamide *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1995**, 370,43-46.
 93. Yamamoto, T., Moriwaki, Y., Suda, M., Nasako, Y., Takahashi, S., Hiroishi, K., Nakano, T., Hada, T., Higashino, K. Effect of BOF-4272 on the oxidation of allopurinol and pyrazinamide in vivo. Is xanthine dehydrogenase or aldehyde oxidase more important in oxidizing both allopurinol and pyrazinamide? *Biochem. Pharmacol.*, **1993**, 46 (12), 2277-2284.

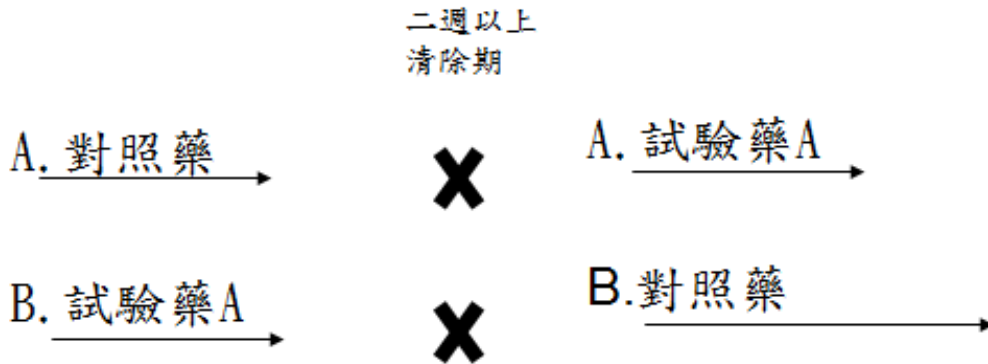
94. Moriwaki, Y., Yamamoto, T., Nasako, Y., Takahashi, S., Suda, M., Hiroishi, K., Hada, T., Higashino, K. In vitro oxidation of pyrazinamide and allopurinol by rat liver aldehyde oxidase. *Biochem. Pharmacol.*, **1993**, 46 (6), 975-981.
95. Yamamoto, T., Moriwaki, Y., Takahashi, S. 5-Hydroxypyrazinamide, a human metabolite of pyrazinamide. *Biochem. Pharmacol.*, **1987**, 36 (14), 2415-2416.
96. Yamamoto, T., Moriwaki, Y., Takahashi, S., Hada, T., Higashino, K. In vitro conversion of pyrazinamide into 5-hydroxypyrazinamide and that of pyrazinoic acid into 5-hydroxypyrazinoic acid by xanthine oxidase from human liver. *Biochem. Pharmacol.*, **1987**, 36 (19), 3317-3318.
97. Yamamoto, T., Moriwaki, Y., Takahashi, S. Study of the metabolism of pyrazinamide using a high-performance liquid chromatographic analysis of urine samples. *Anal. Biochem.*, **1987**, 160 (2), 346-349.
98. Lounis, N.; Gevers, T.; Van Den Berg, J.; Verhaeghe, T.; Heeswijk, R.; Andries, K. Prevention of drug carryover effects in studies assessing antimycobacterial efficacy of TMC207. *J. Clin. Microbiology*, 2008, 46 (7), 2212-2215.
99. Pal R., et al. Effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 636-9.
100. Durand F., et al. Hepatotoxicity of antitubercular treatments. Rationale for monitoring liver status. *Drug Safety.* 1996; 15: 394-405.
101. Maddrey WC., et al. Isoniazid hepatitis. *Ann. Intern. Med.* 1973; 79: 1-12.
102. Black M., et al. Isoniazid-associated hepatitis in 114 patients. *Gastroenterology.* 1975; 69: 289-302.
103. Girling D., et al. Adverse effects of antituberculosis drugs. *Drugs.* 1982; 23: 56-74.
104. Hwang SJ, Wu JC, Lee CN., et al. A prospective clinical study of isoniazid-rifampicin-pyrazinamide induced liver injury in an area endemic for hepatitis. *B. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1997; 12: 87-91.
105. Yi-Shin Huang., et al. Cytochrome P450 2E1 Genotype and the Susceptibility to Antituberculosis Drug-Induced Hepatitis ; *American Association for the Study of Liver Diseases.* 2003; 37: 924-930.
106. Mitchell JR., et al. Isoniazid liver injury: clinical spectrum, pathology and probable pathogenesis. *Ann Intern Med* 1976; 84: 181-192.
107. Farrell GC., et al. Drug-induced acute hepatitis. In: Farrell GC, ed. Drug-induced liver disease. *Edinburgh: Churchill Livingstone.* 1994; 247-299.
108. Ryan DE., et al. Characterization of a major form of rat hepatic microsomal cytochrome P-450 induced by isoniazid. *J Biol Chem.* 1985; 260: 6385-6393.
109. Bidyut Roy., et al. Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1 'null' mutation. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 2001; 16: 1033-1037.
110. David P., et al. Functional Divergence in the Glutathione Transferase Superfamily in Plants. *J Biol Chem.* 2002; 177: 30859-30869.
111. Evans DA. N-Acetyltransferase. *Pharmacol Ther.* 1989; 42: 157-234.
112. Eichelbaum M., et al. Genetically determined differences in drug metabolism as a risk factor in drug toxicity. *Toxicol Lett.* 1992; 64-65: 115-22.
113. Ellard GA., et al. Variations between individuals and populations in the acetylation of isoniazid and its significance for the treatment of pulmonary tuberculosis. *Clin Pharmacol Ther.* 1976; 19: 610-25.
114. Weber WW., et al. N-Acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol Rev.* 1985; 37: 25- 79.
115. Cascorbi I., et al. NAT2*12A (803A(G) codes for rapid arylamine N-acetylation in humans. *Pharmacogenetics.* 1996; 6: 257-259.
116. Hein D. W., et al. Molecular genetics of human polymorphic N-acetyltransferase:

- enzymatic analysis of 15 recombinant wild-type, mutant and chimeric NAT2 allozymes. *Hum. Mol. Genet.* 1994; 3: 729–734.
117. Lin H. J., et al. Slow acetylator mutations in the human polymorphic N-acetyltransferase gene in 786 Asians, blacks, Hispanics and whites: application to metabolic epidemiology. *Am. J. Hum. Genet.* 1993; 52: 827–834.
 118. Doll M. A., et al. Cloning, sequencing and expression of NAT1 and NAT2 encoding genes from rapid and slow acetylator inbred rats. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 247–251.
 119. Lin H. J., et al. Ethnic distribution of slow acetylator mutations in the polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) gene. *Pharmacogenetics.* 1994; 4: 125–134.
 120. Shishikura K., et al. Novel allele containing a 190C> T nonsynonymous substitution in the N-acetyltransferase (NAT2) gene. *Human Mutat.* 2000; 5: 581
 121. Ferguson R. J., et al. Cloning, expression and functional characterisation of two mutant (NAT2191 and NAT2341/803) and wild-type human polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) alleles. *Drug Metab. Dispos.* 1994; 22: 371–376.
 122. Fretland A. J., et al. Functional characterisation of human N-acetyltransferase 2 (NAT2) single nucleotide polymorphisms. *Pharmacogenetics.* 2001; 11: 207–215.
 123. Hickman D., et al. Enzyme kinetic properties of human recombinant arylamine N-acetyltransferase 2 allotypic variants expressed in *Escherichia coli*. *Biochem. Pharmacol.* 1995; 50: 697–703.
 124. Leff M. A., et al. Novel human N-acetyltransferase 2 alleles that differ in mechanism for slow acetylator phenotype. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 34519–34522.
 125. Sotiria B., et al. ARYLAMINE N-ACETYLTRANSFERASES: WHAT WE LEARN FROM GENES AND GENOMES. *Drug Metabolism Reviews.* 2005; 37: 511–564.
 126. Abe M., et al. The structure and characterisation of a fourth allele of polymorphic N-acetyltransferase gene found in the Japanese population. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 191: 811–816.
 127. Blum M., et al. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991; 88: 5237–5241.
 128. Hickman D., et al. N-acetyltransferase polymorphism: comparison of phenotype and genotype in humans. *Biochem. Pharmacol.* 1991; 42: 1007–1014.
 129. Vatsis K. P., et al. Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991; 88: 6333–6337.
 130. Deguchi T., et al. Sequences and expression of alleles of polymorphic arylamine N-acetyltransferase of human liver. *J. Biol. Chem.* 1992; 267: 18140–18147.
 131. Deguchi T., et al. Correlations between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 12757–12760.
 132. Sim E., et al. Polymorphism in human N-acetyltransferase—the case of the missing allele. *Trends Pharmacol. Sci.* 1991; 12: 211–213.
 133. Guengerich FP., et al. Activation of procarcinogens by human cytochrome P450 enzymes. *Mutat Res* 1998; 400: 201–213.
 134. Maezawa Y., et al. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome p450IIE1 gene and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 561–565.
 135. Tsutsumi M., et al. Genetic polymorphism of cytochrome P-450 2E1 related to the development of alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1994; 107:1430–1435.
 136. Yu MW., et al. Cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1995; 109: 1266–1273.
 137. Watkins PB., et al. The role of cytochrome P450s in drug-induced liver disease. In: Kaplowitz N, Deleve LD, eds. *Drug-Induced Liver Disease.* New York: Marcel Dekker.

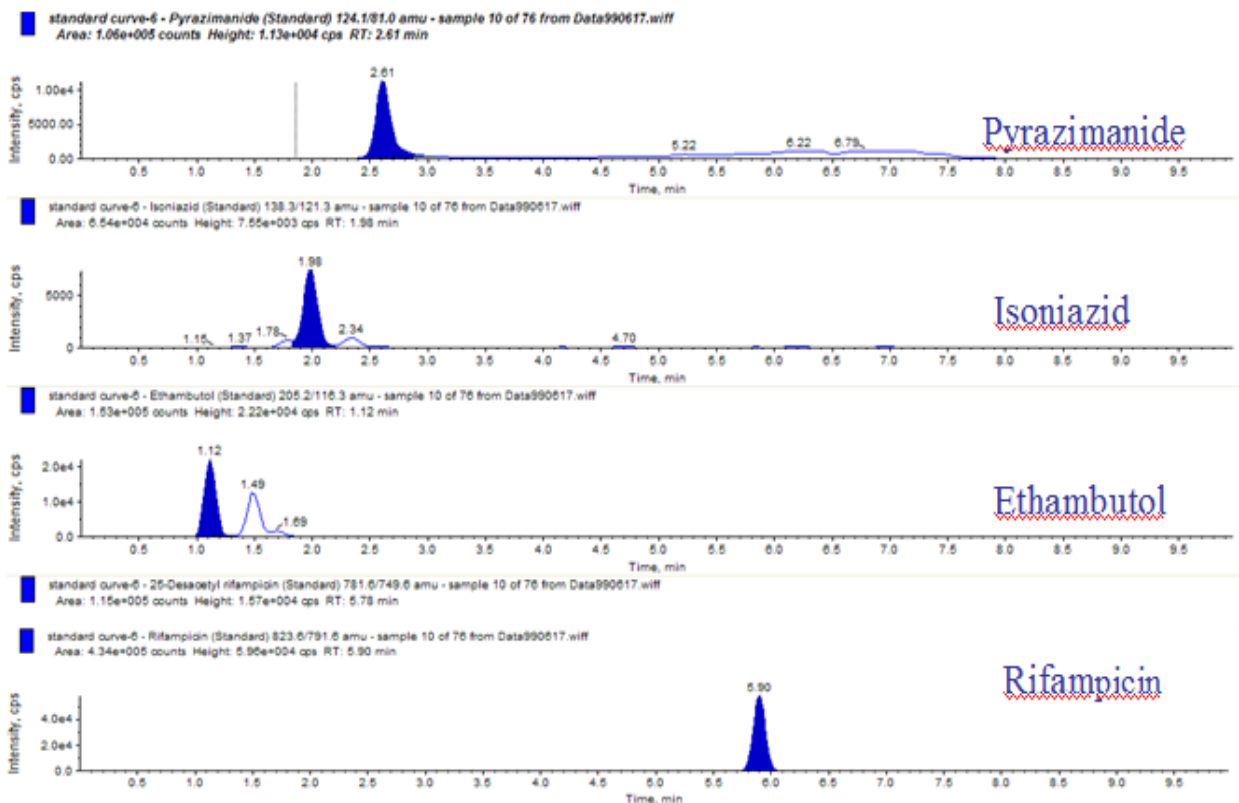
- 2003: 15-33.
138. Stephens EA., et al. Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans, European-Americans and Taiwanese. *Pharmacogenetics*. 1994; 4: 185-192.
 139. Hermann M., et al. Ea al. The cytochrome P-450 isoenzyme CYP2E1 in the biological processing of industrial chemicals: consequences for occupational and environmental medicine. *Int Arch Occup Environ Health*. 2003; 76: 174-185.
 140. Meister A., et al. Selective modification of glutathione metabolism. *Science*. 1983; 220: 472-7.
 141. Andreoli SP., et al. Role of glutathione in protecting endothelial cells against hydrogen peroxide oxidant injury. *J. Lab. Clin. Med*. 1986; 108: 190-8.
 142. Wolkoff A.W., et al. The glutathione S-transferases: their role in the transport of organic anions from blood to bile. *Int. Ver. Physiol*. 1980; 21: 151-169.
 143. Mannervick B., et al. The isoenzymes of glutathione transferase. *Adv. Enzymol*. 1985; 57: 357-417.
 144. Seidegard J., et al. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1988; 85: 7293-7297.
 145. Groppi A., et al. Glutathione S-transferase class μ in French alcoholic cirrhotic patients. *Hum. Genet*. 199; 1 87: 628-630.
 146. Mikelsaar A.V., et al. Human glutathione S-transferase GSTM1 genetic polymorphism in Estonia. *Hum. Hered*. 1994; 44: 248-251.
 147. Zhao L., et al. Polymorphism at the glutathione S-transferase GSTM1 locus: a study of the frequencies of the GSTM1 A, B, A/B and null phenotypes in Nigerians. *Clin. Chim. Acta*. 1994; 225: 85-88.
 148. Lin J.L., et al. Ethnic distribution of the glutathione transferase Mu 1-1 (GSTM1) null genotype in 1473 individuals and application to bladder cancer susceptibility. *Carcinogenesis*. 1994; 15: 1077-1081.
 149. Hatagima Ana., et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) polymorphism in two Brazilian populations. *Genetics and Molecular Biology*. 2000; 23: 709-713.
 150. Sodhi CP., et al. stress in isoniazid induced hepatic injury in young rats with and without protein energy malnutrition. *J. Biochem. Toxicol*. 1996; 11: 139-46.
 151. Nicolas V., et al. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2006; 62: 423-429.
 152. Ohno M., et al. Slow N-acetyltransferase 2 genotype affects the incidence of isoniazid and rifampicin-induced hepatotoxicity. *INT J TUBERC LUNG DIS* 2000; 4: 256-261.
 153. Lizard-Nacol Sarab., et al. Glutathione S-transferase M1 null genotype: lack of association with tumour characteristics and survival in advanced breast cancer. *Breast Cancer Res*. 1999; 1: 81-87.

柒、 圖表

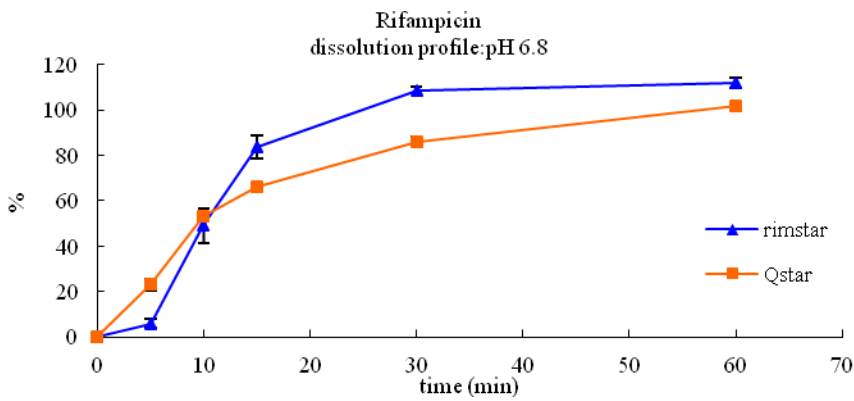
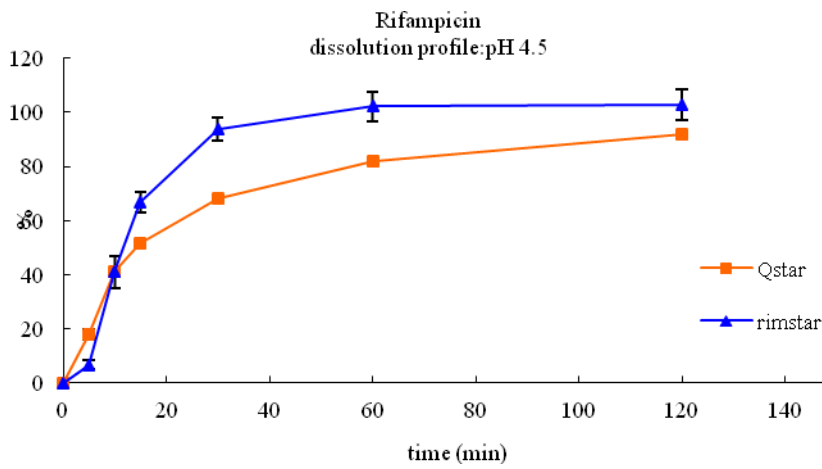
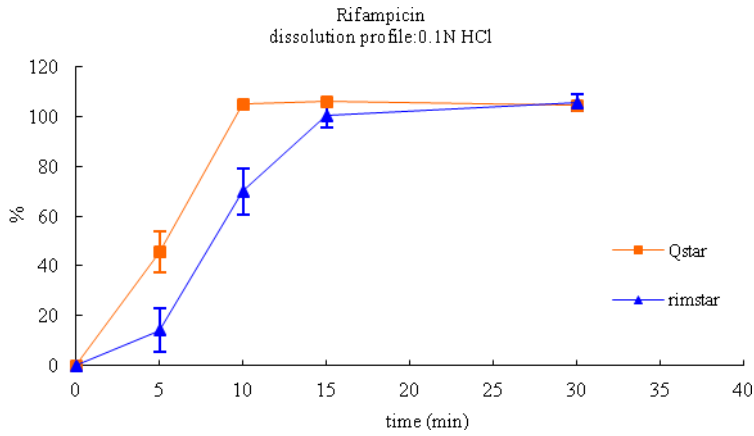
154.



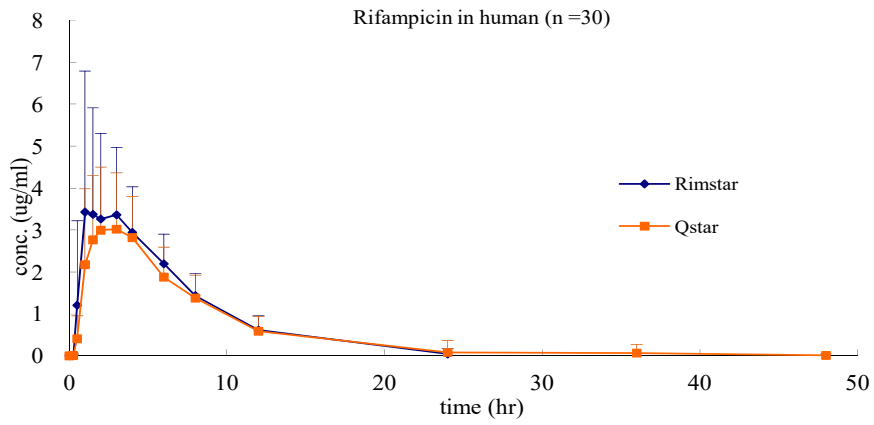
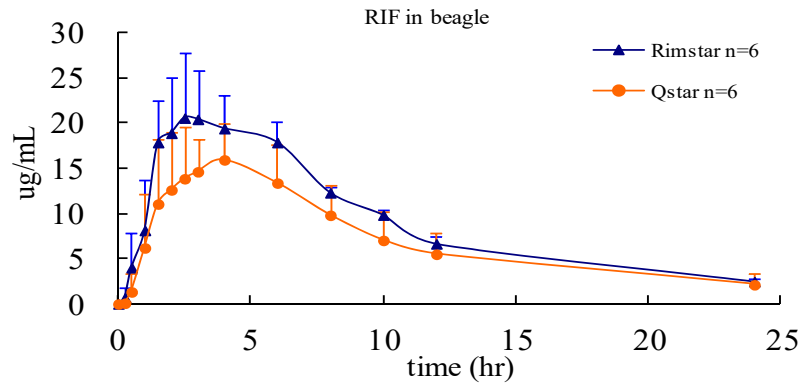
圖一、四合一製劑的人體預試驗設計，本試驗為單一試驗中心、兩期、開放式、交叉試驗 (cross over study)，受試者隨機分配。



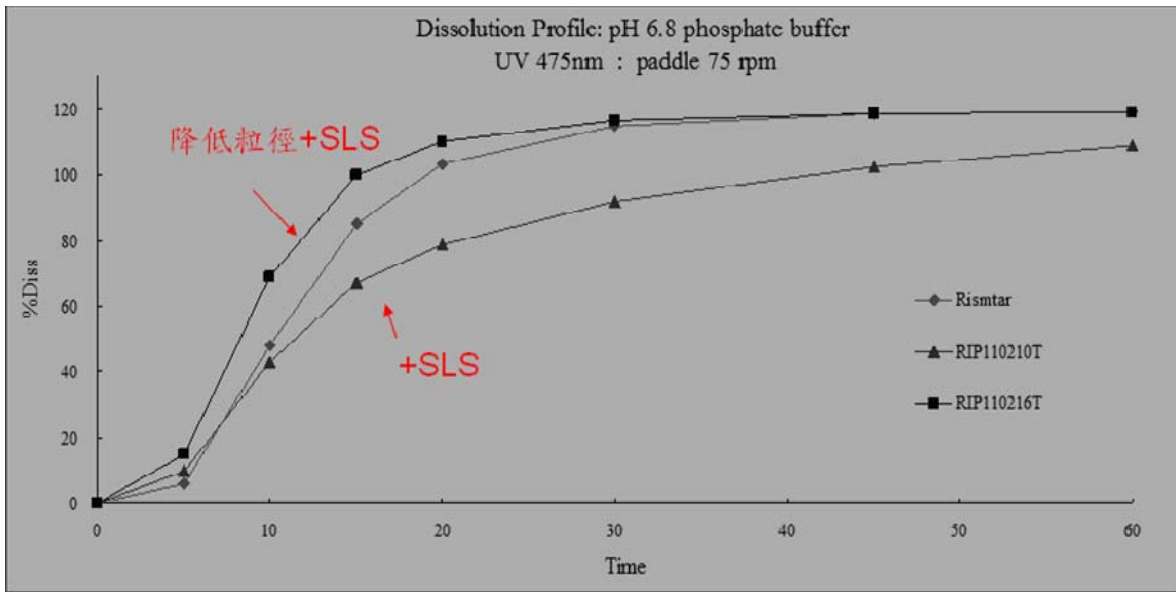
圖二、治療 TB 藥物的分析圖譜 (治療藥物：isoniazid、rifampicin、pyrazinamide、ethambutol；內部標準品：isoniazid-d4、rifampicin-d3、ethambutol-d4)



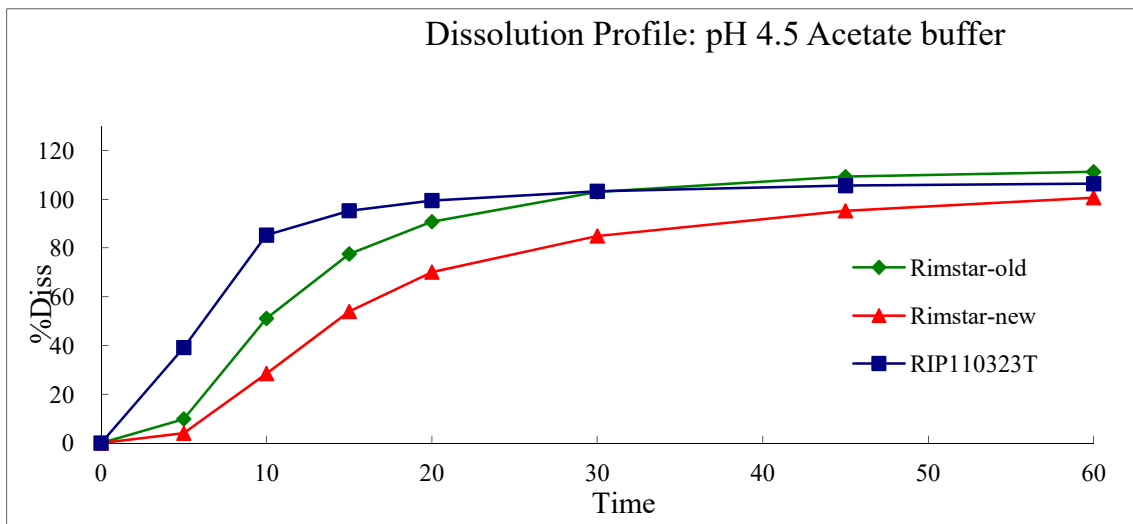
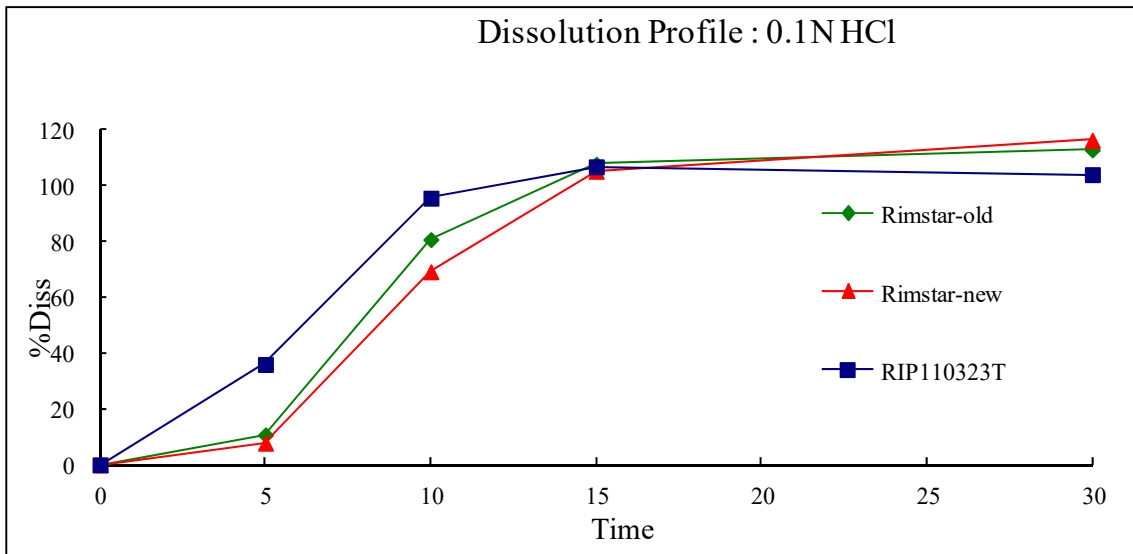
圖三、Rifampicin 於同 pH 溶離媒液中自四合一製劑中之體外溶離試驗結果



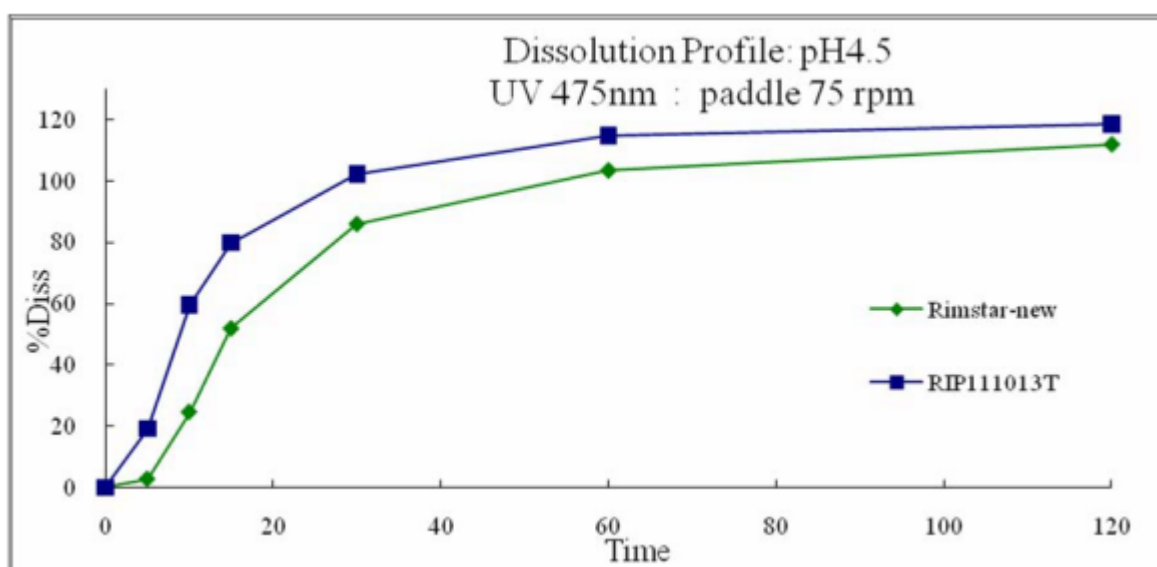
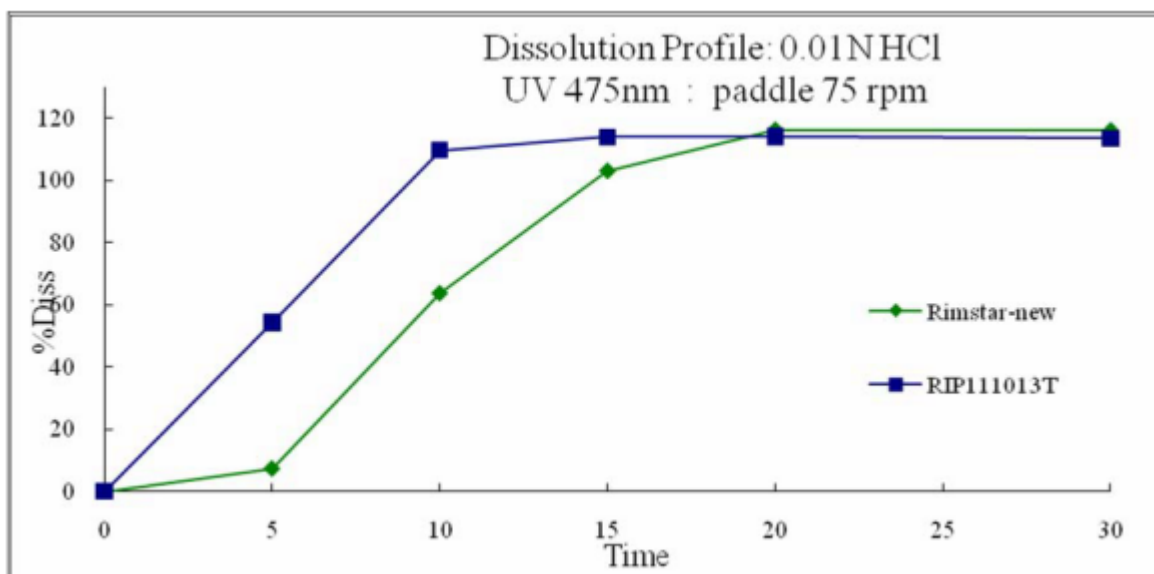
圖四、給與 Qstar(試驗藥品)與 Rimstar(對照藥品)於狗及人體之 Rifampicin 血中藥物濃度對時間關係圖



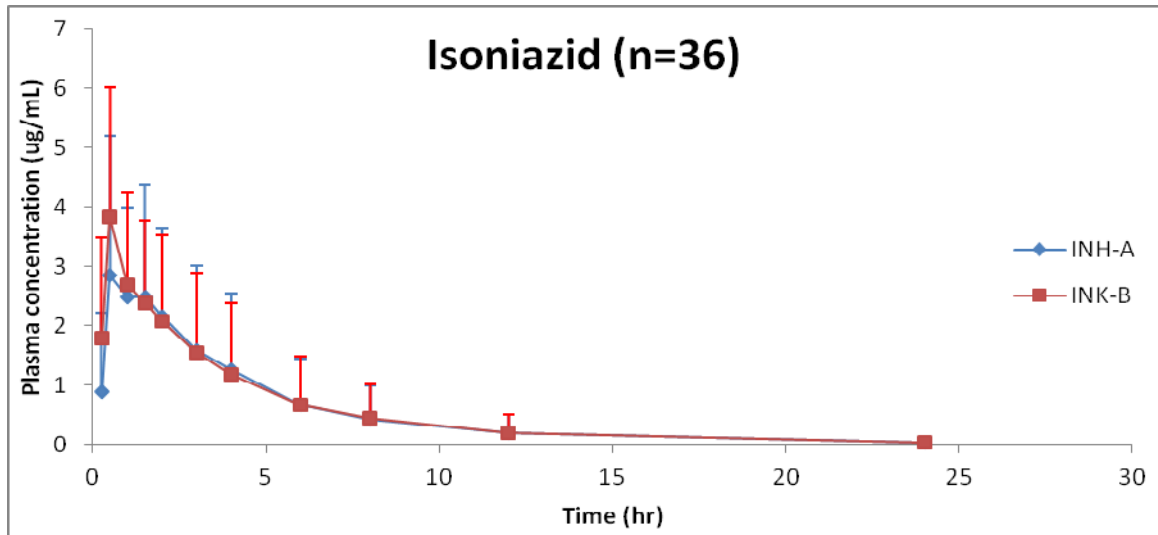
圖五、添加 SLS 與降低 rifampicin 藥物粒徑隊於其於 pH6.8 媒液中知溶離試驗結果



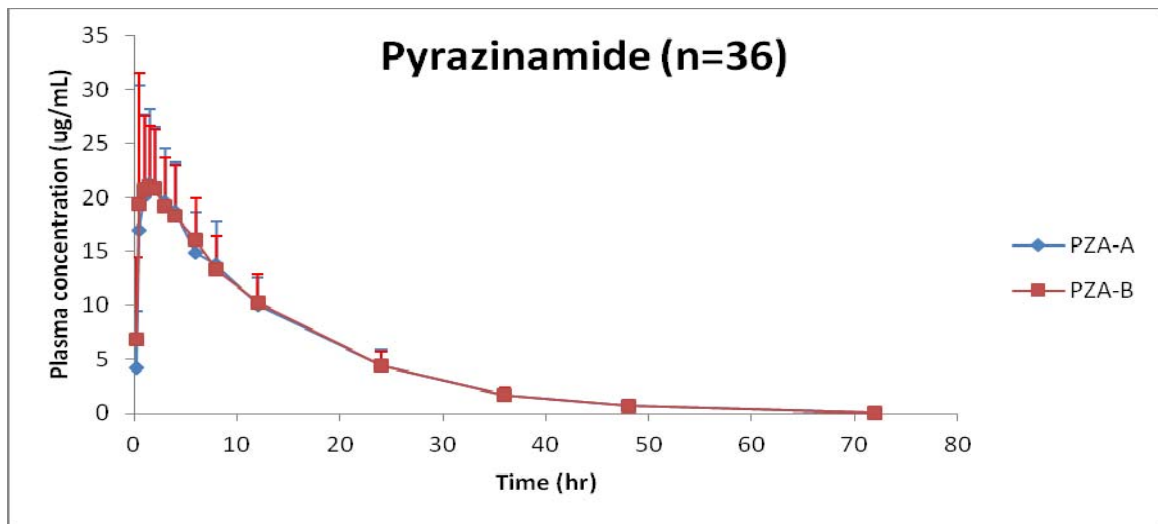
圖六、批號 110323T 與新、舊對照藥之溶離比對圖



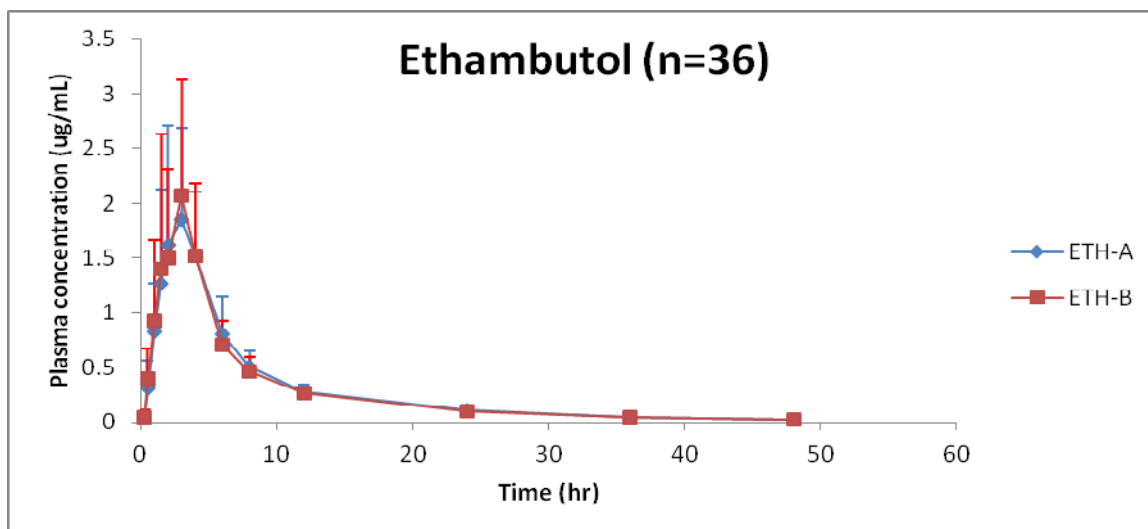
圖七、批號 111013T 與新對照藥之溶離比對圖



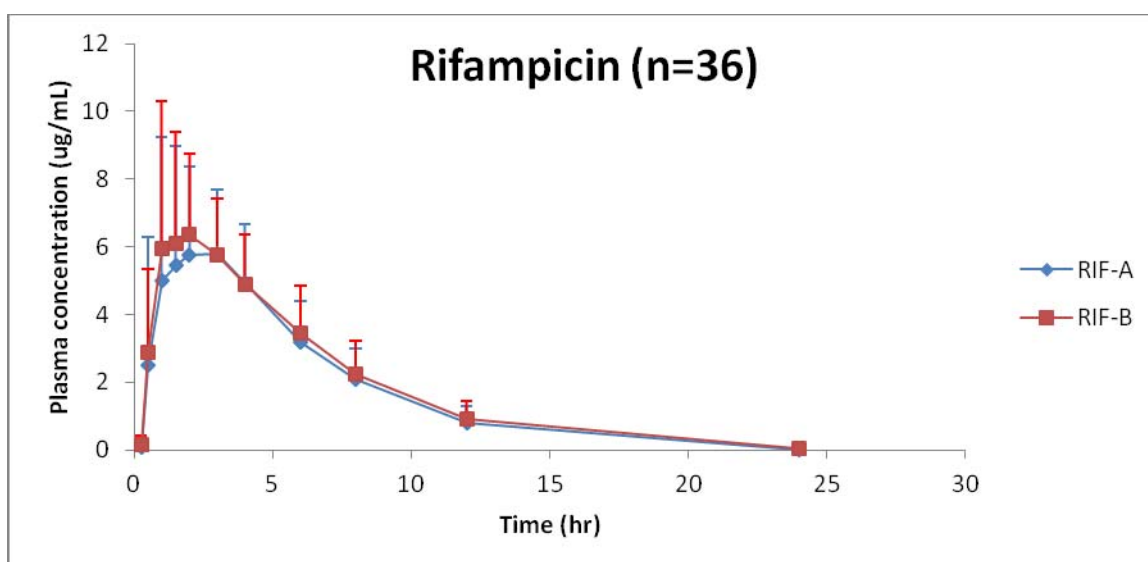
圖壹、四合一處方 Qstar 與 Rimstar 之 Isoniazid 於人體相等性試驗的血中濃度圖



圖貳、四合一處方 Qstar 與 Rimstar 之 Prazinamide 於人體相等性試驗的血中濃度圖

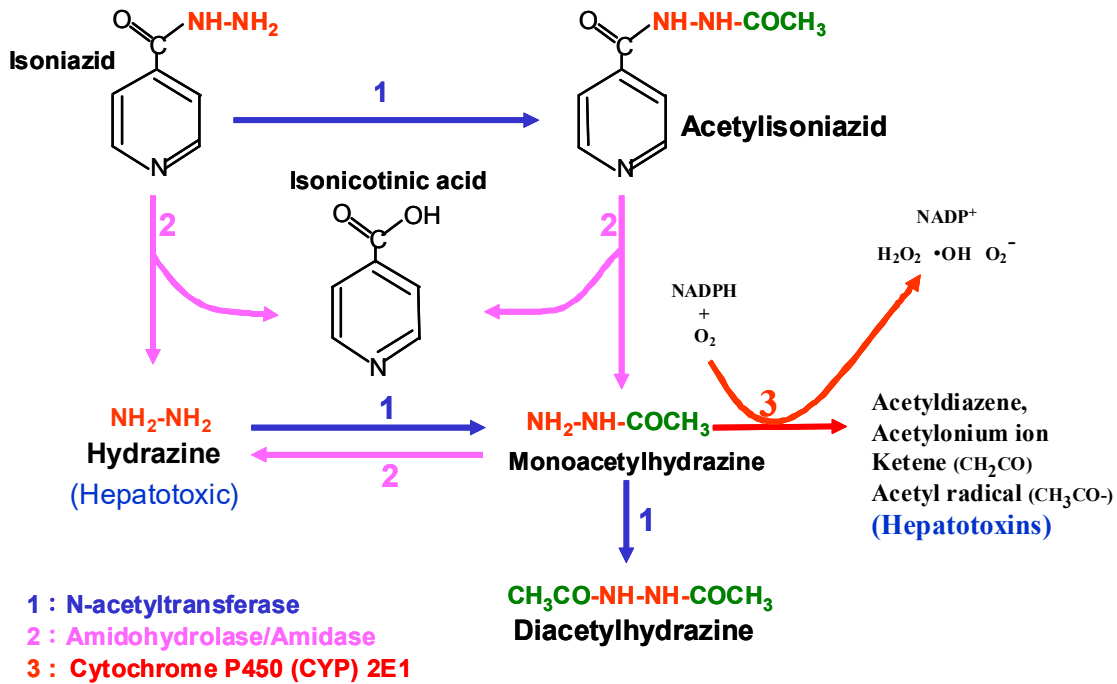


圖參、四合一處方 Qstar 與 Rimstar 之 Ethambutol 於人體相等性試驗的血中濃度圖



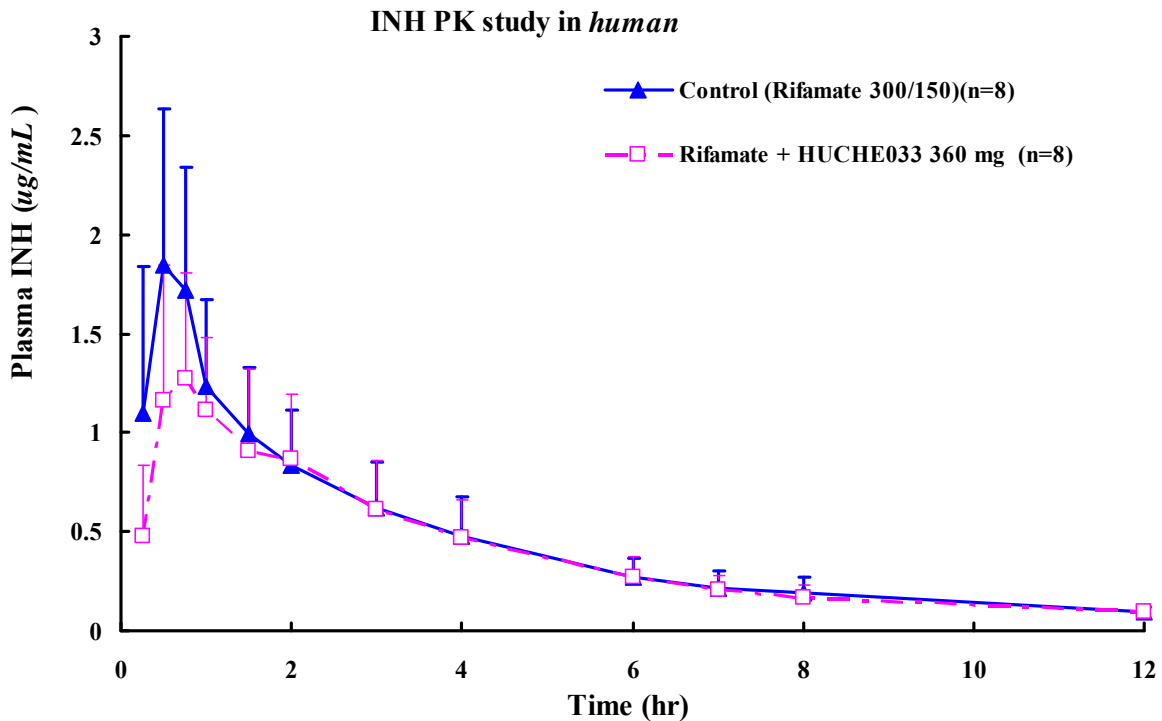
圖肆、四合一處方 Qstar 與 Rimstar 之 Rifampicin 於人體相等性試驗的血中濃度圖

Metabolism of Isoniazid in the Liver

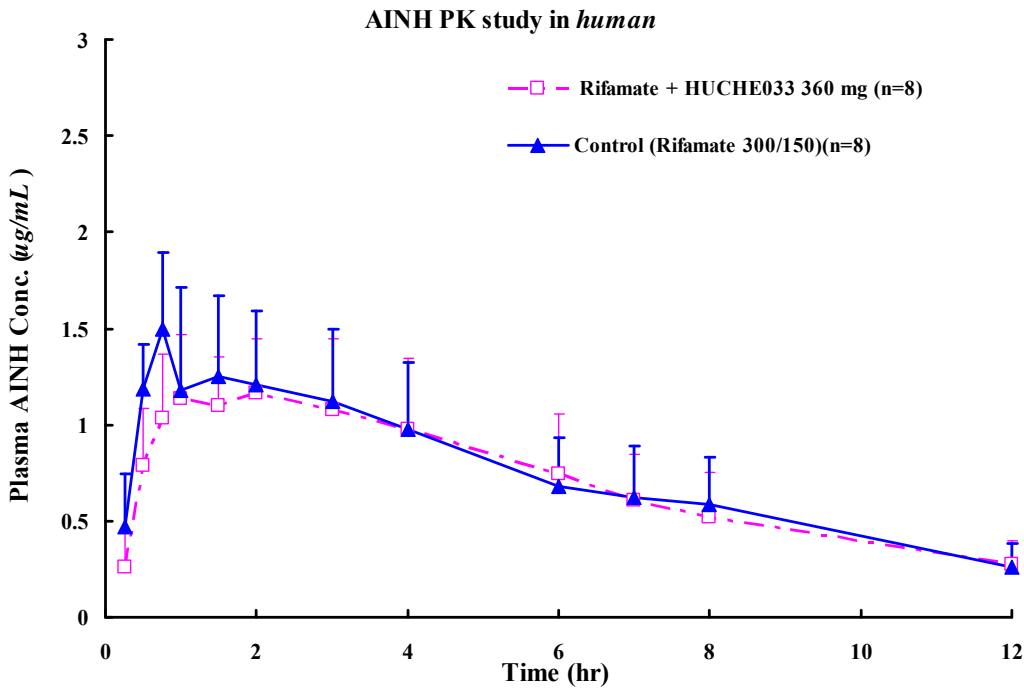


The major pathway of isoniazid metabolism was acetylation.
This direct pathway contributes only a small portion to the clearance of INH.

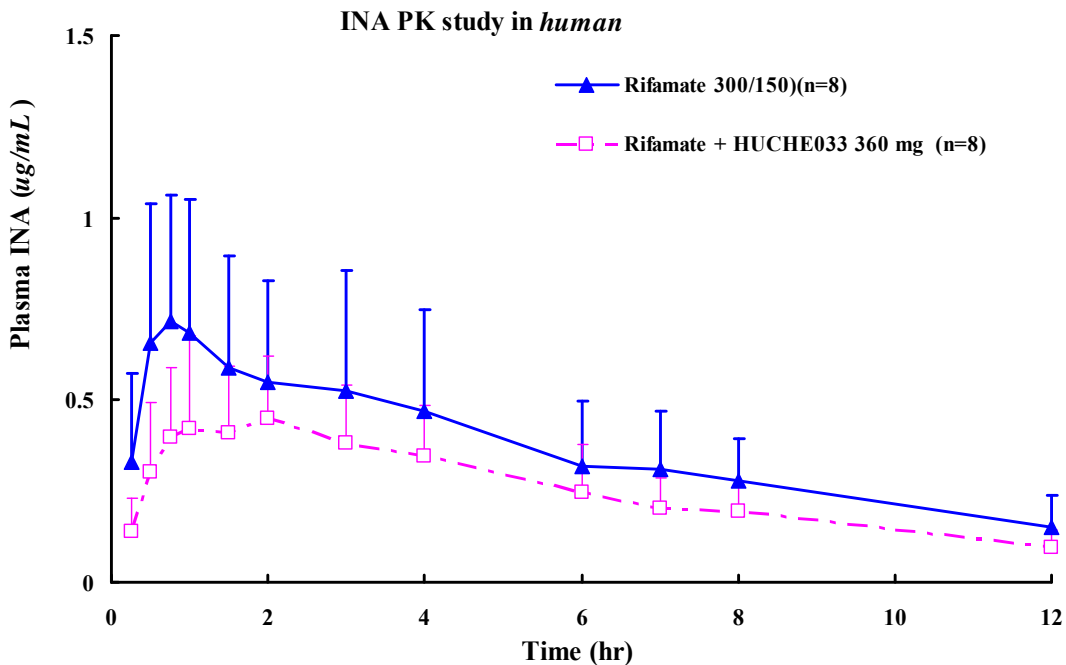
圖八、為異菸鹼醯胺(INH)在肝臟中之代謝途徑圖



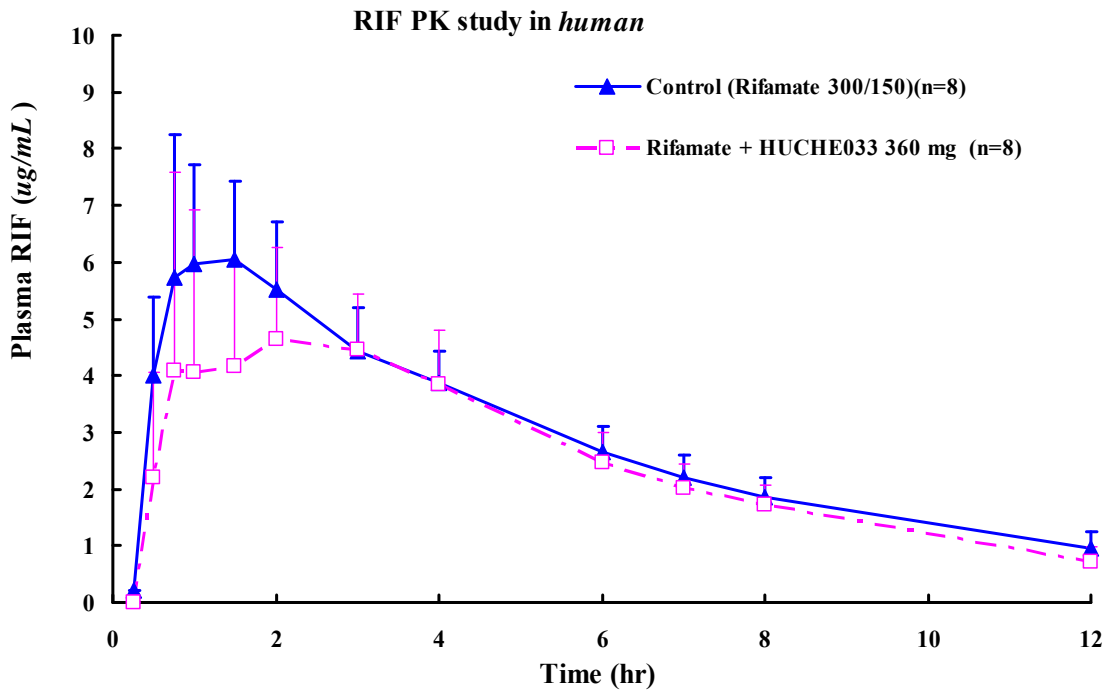
圖九、Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg，Isoniazid 於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予 Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE033 360 mg 實驗組，給予 Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360mg)。



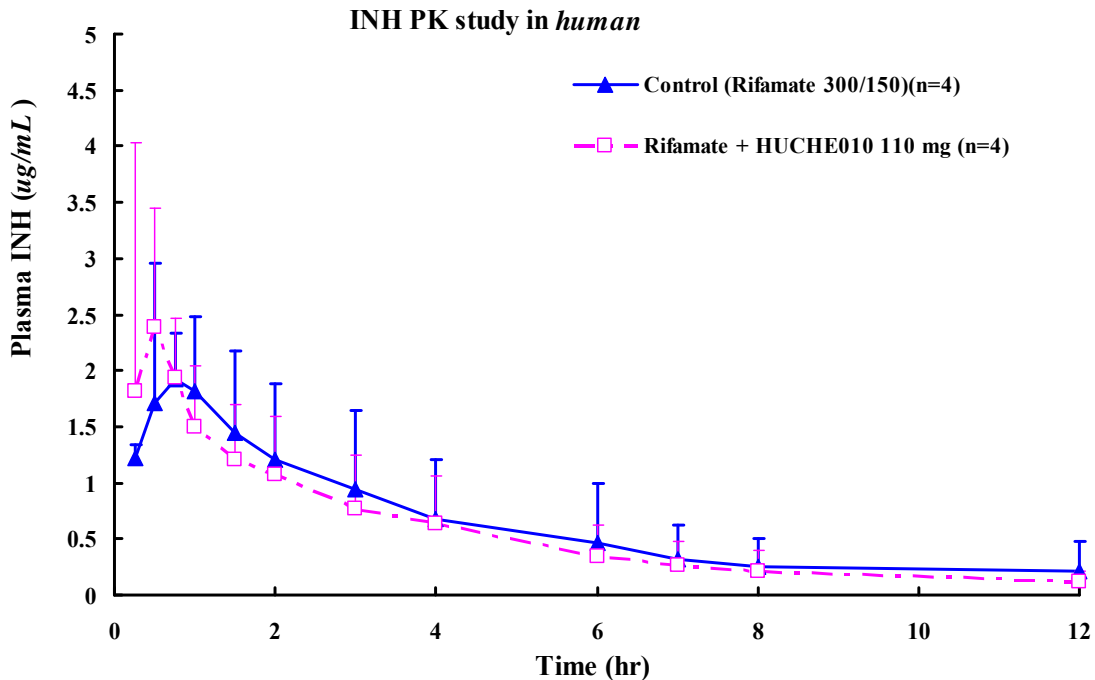
圖十、Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg，Isoniazid經NAT2之代謝物acetylisoniazid (AINH)於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予Rifamate (300/150)；空心方塊為HUCHE033 360 mg實驗組，給予Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360mg)。



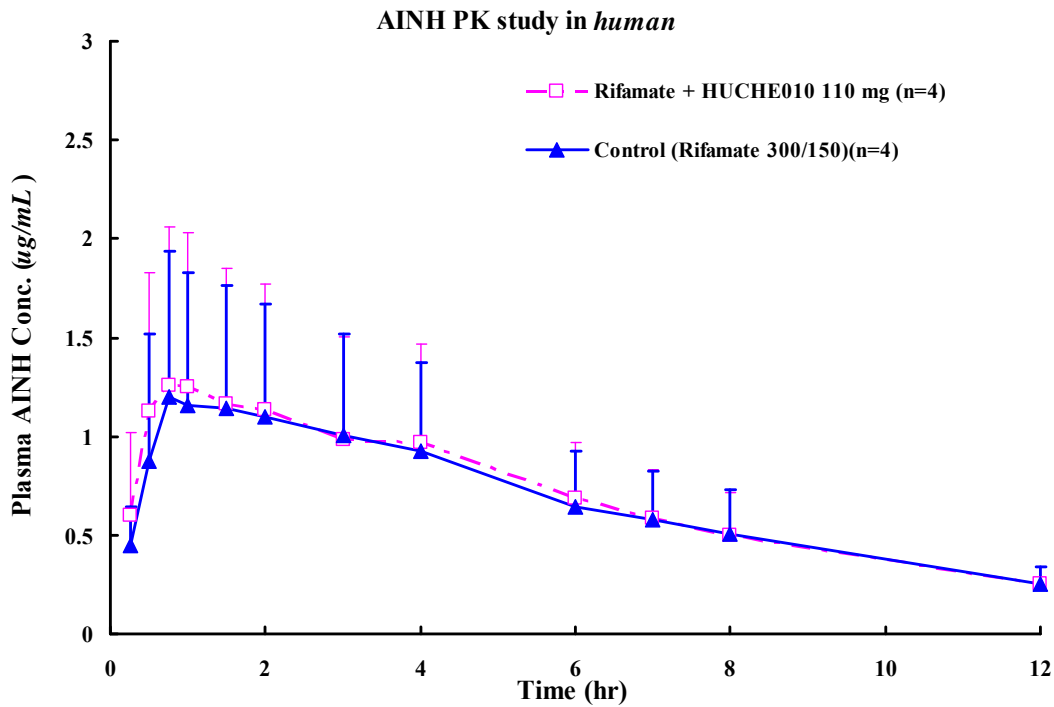
圖十一、Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg，Isoniazid經amidase之代謝物isonicotinic acid (INA)於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予Rifamate (300/150)；空心方塊為HUCHE033 360 mg實驗組，給予Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360mg)。



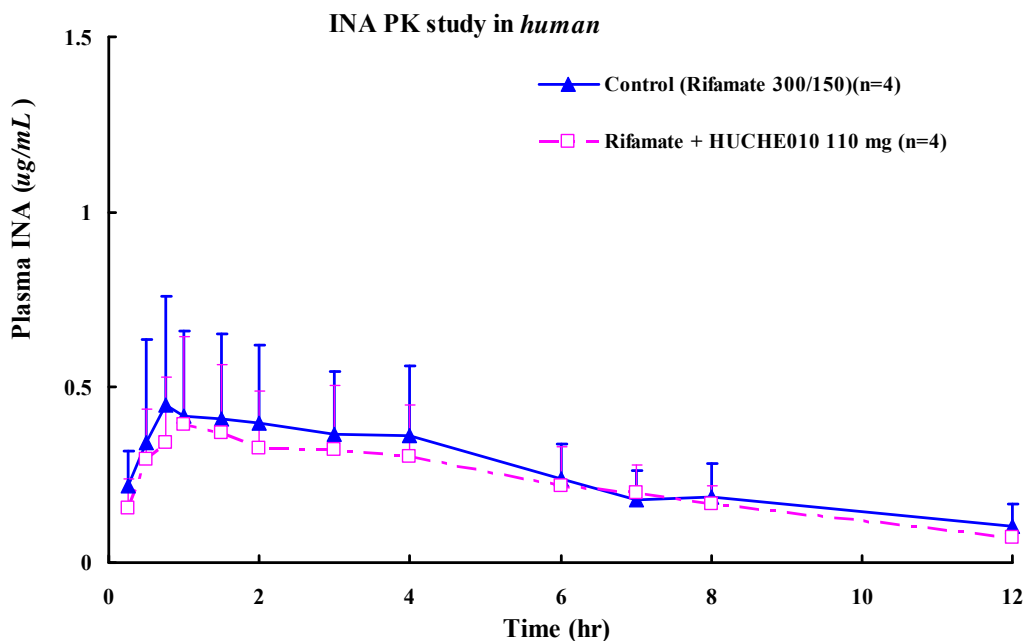
圖十二、Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg，rifampin 於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予 Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE033 360 mg 實驗組，給予 Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360mg)。



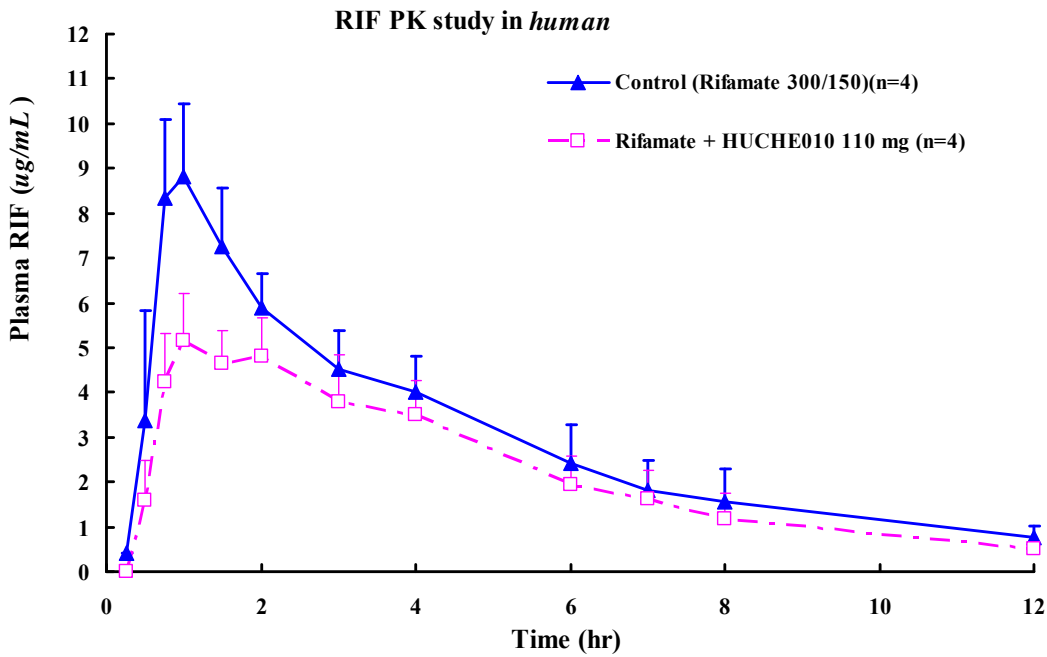
圖十三、Rifamate併服或不併服HUCHE010 110 mg，Isoniazid於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE010 110 mg實驗組，給予Rifamate (300/150) + HUCHE010 (110mg)。



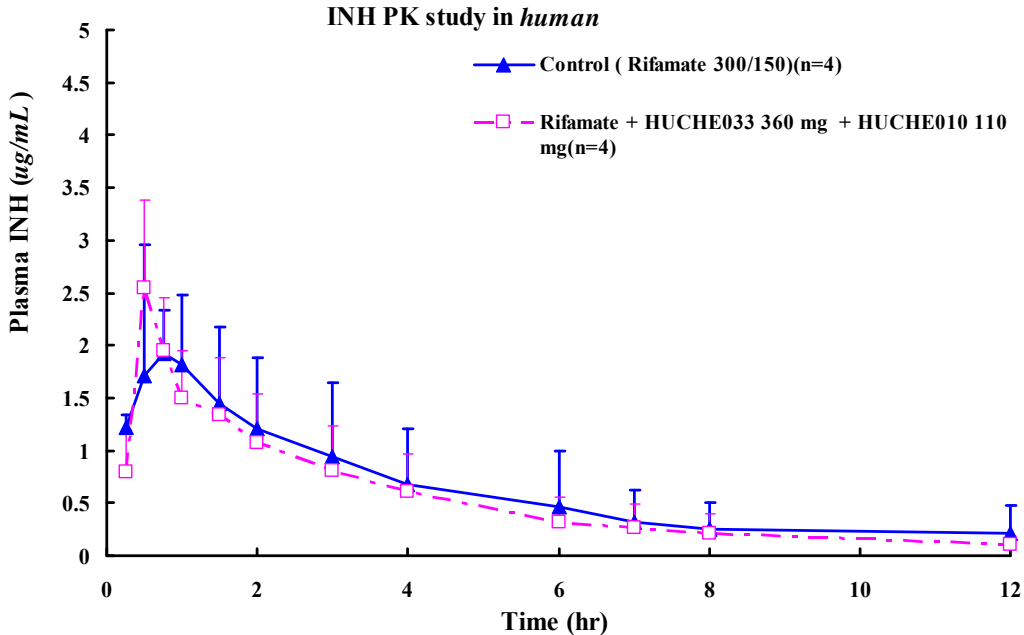
圖十四、Rifamate 併服或不併服 HUCHE010 110 mg，Isoniazid 經 NAT2 之代謝物 acetylisoniazid (AINH)於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予 Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE010 110 mg 實驗組，給予 Rifamate (300/150) + HUCHE010 (110mg)。



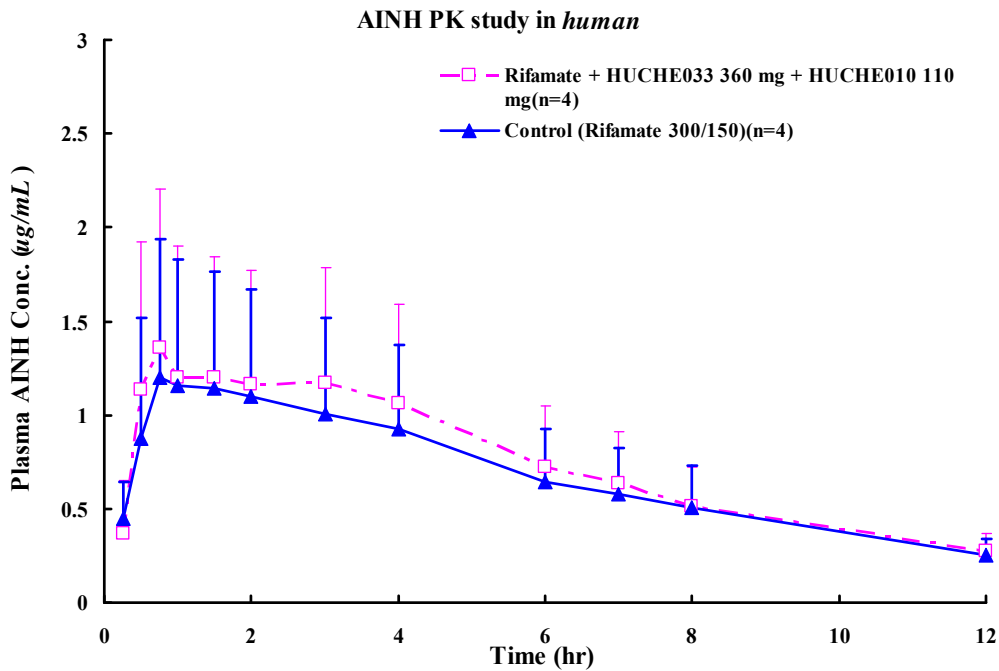
圖十五、Rifamate 併服或不併服 HUCHE010 110 mg，Isoniazid 經 amidase 之代謝物 isonicitinic acid (INA)於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予 Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE010 110 mg 實驗組，給予 Rifamate (300/150) + HUCHE010 (110mg)。



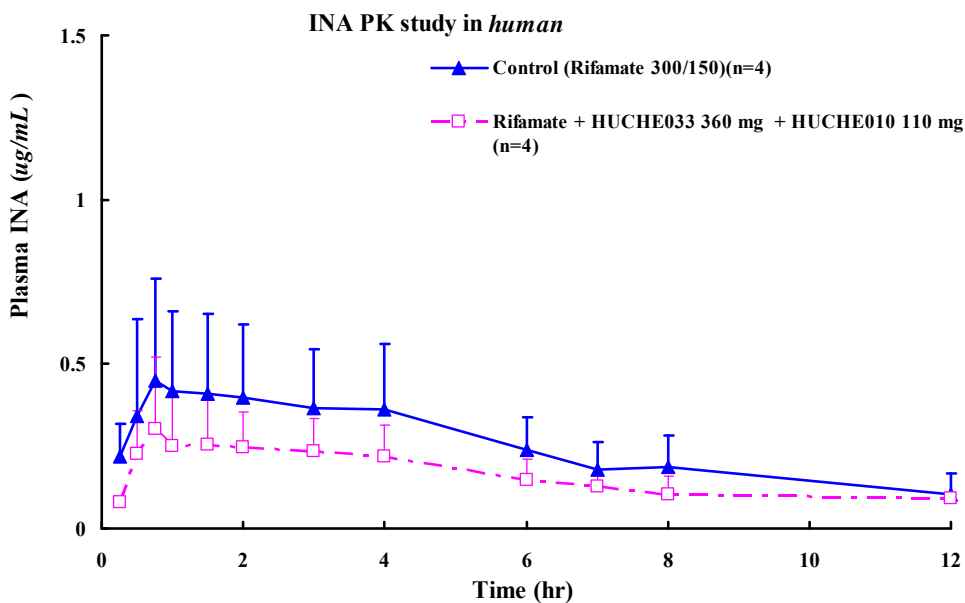
圖十六、Rifamate 併服或不併服 HUCHE010 110 mg，rifampin 於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予 Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE010 110 mg 實驗組，給予 Rifamate (300/150) + HUCHE010 (110mg)。



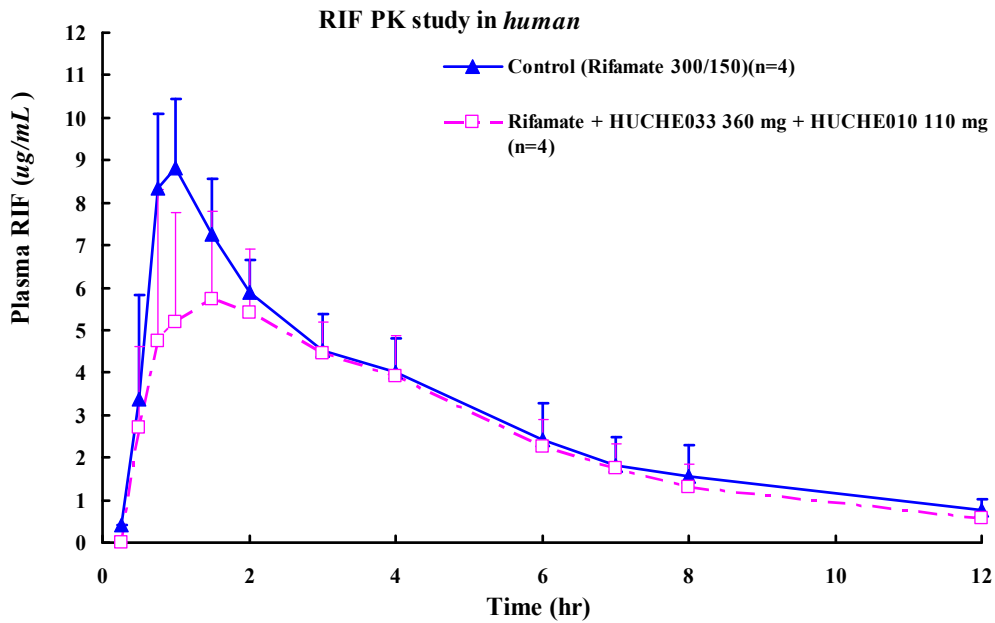
圖十七、Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，Isoniazid 於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予 Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg 實驗組，給予 Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360 mg) + HUCHE010 (110 mg)。



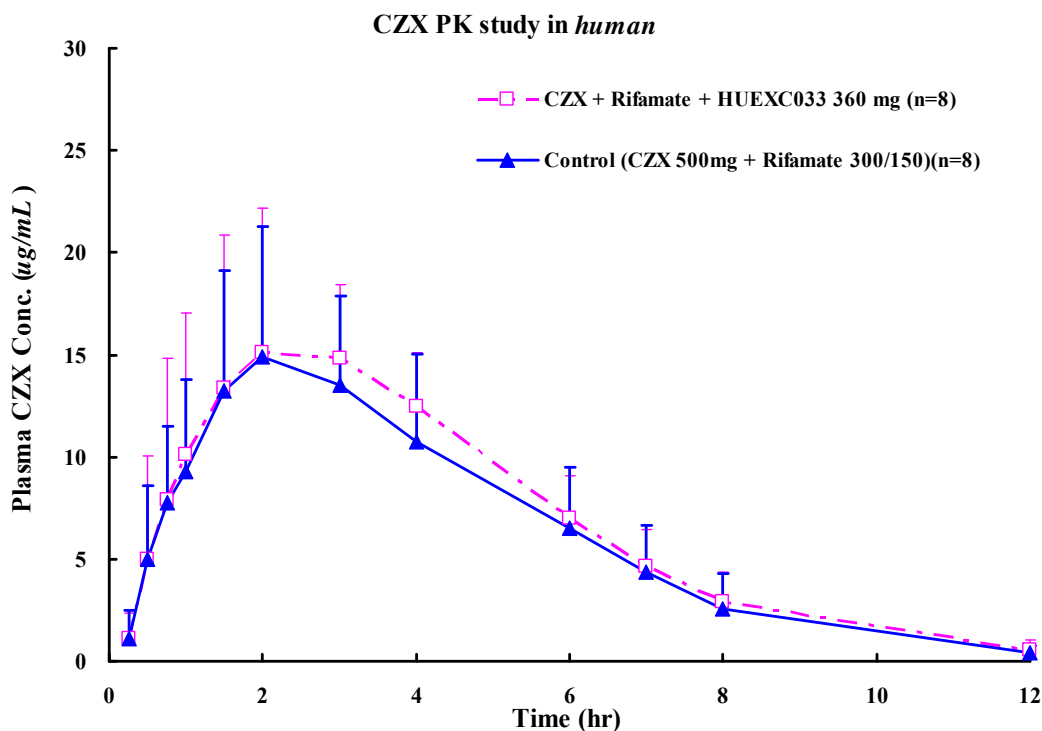
圖十八、Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，Isoniazid 經 NAT2 之代謝物 acetylisoniazid (AINH)於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予 Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg 實驗組，給予 Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360 mg) + HUCHE010 (110 mg)。



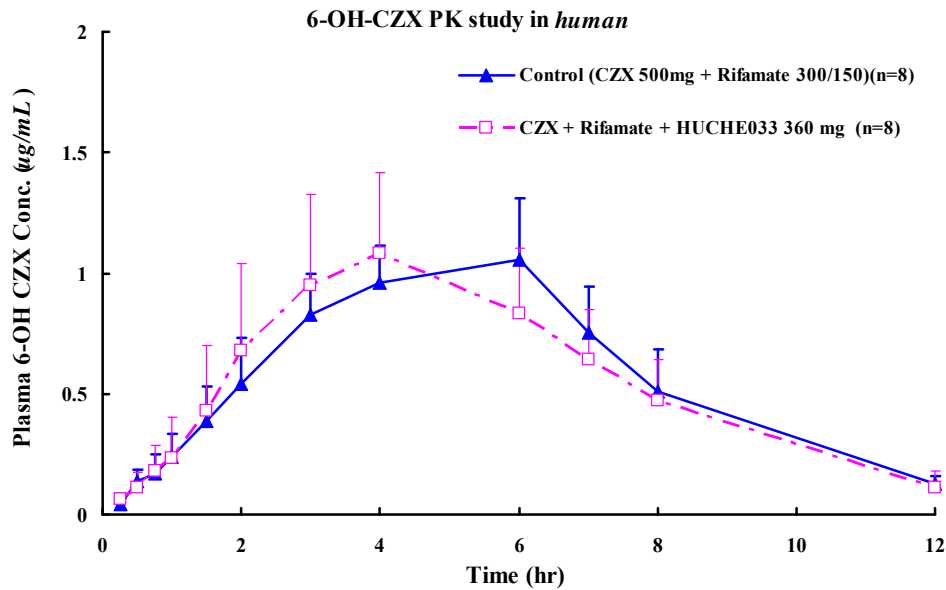
圖十九、Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，Isoniazid 經 amidase 之代謝物 isonicitinic acid (INA)於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予 Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg 實驗組，給予 Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360 mg) + HUCHE010 (110 mg)。



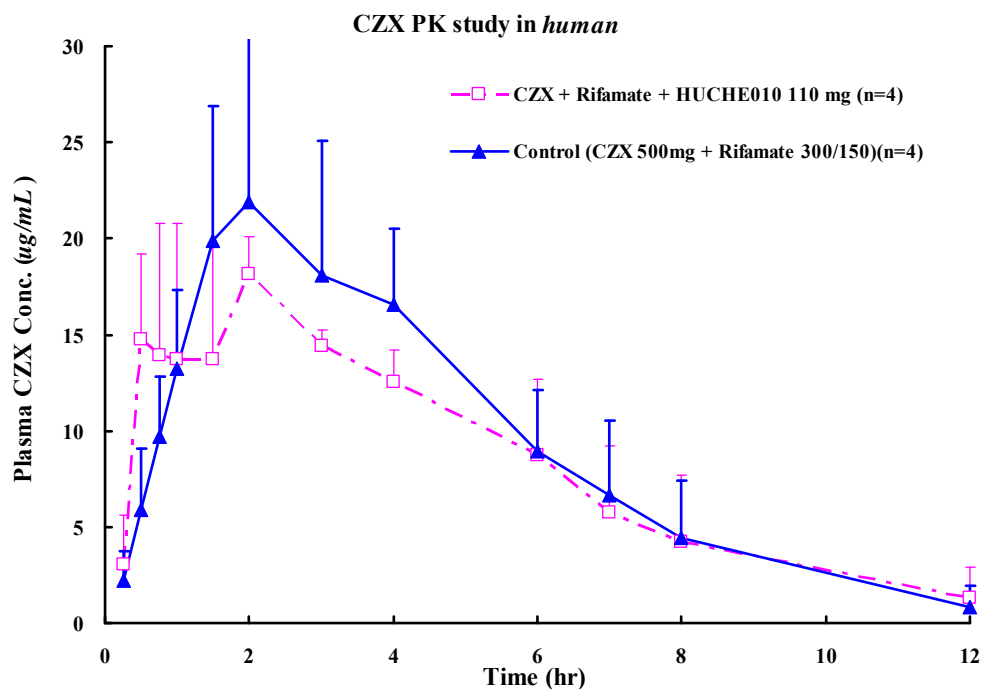
圖二十、Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，rifampin於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為控制組，給予Rifamate (300/150)；空心方塊為HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg實驗組，給予Rifamate (300/150) +HUCHE033 (360 mg) + HUCHE010 (110 mg)。



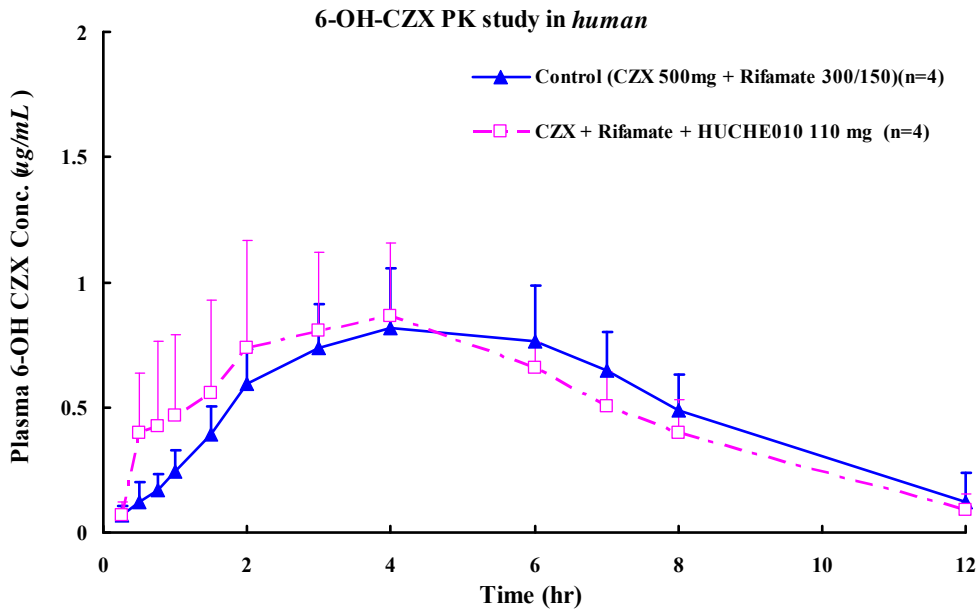
圖二十一、Chlorzoxazone + Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg，Chlorzoxazone於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為INH控制組，給予Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150)；空心方塊為HUCHE033實驗組，給予Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360mg)。



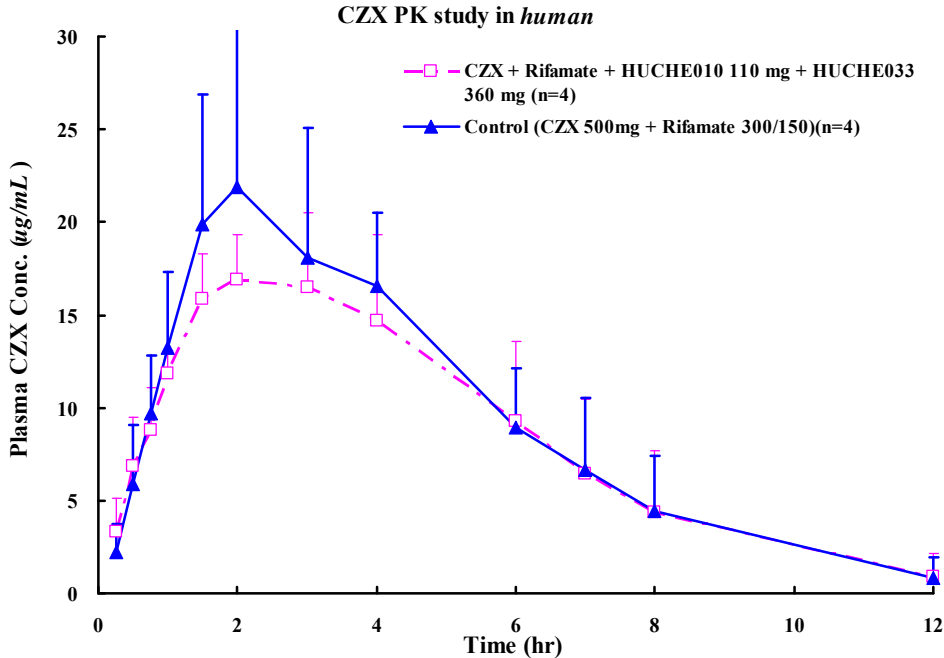
圖二十二、Chlorzoxazone + Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg，Chlorzoxazone代謝物6-OH-Chlorzoxazone於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為INH控制組，給予Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150)；空心方塊為HUCHE033實驗組，給予Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360mg)。



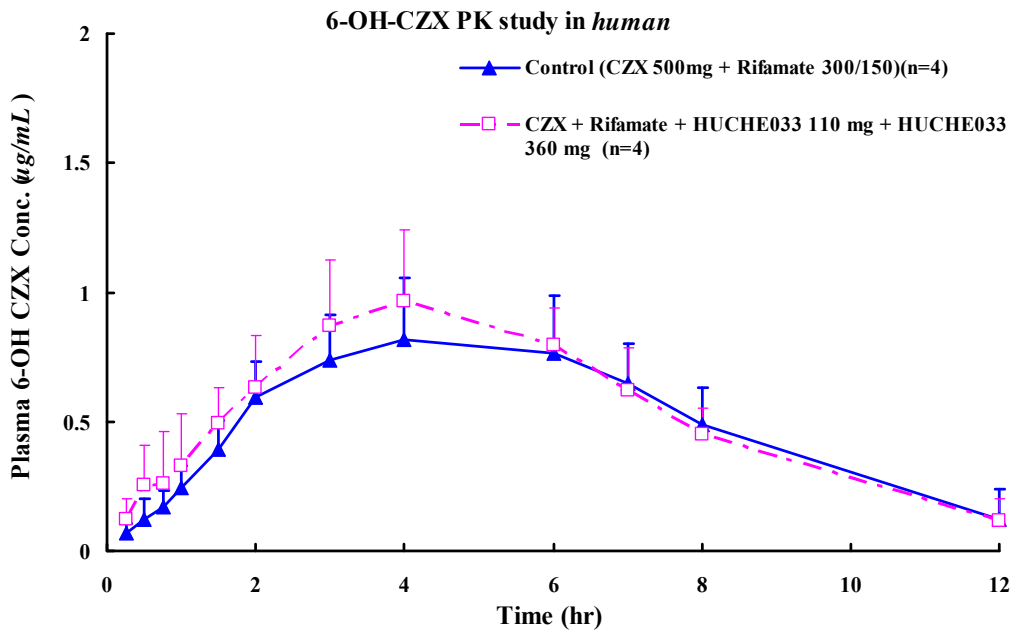
圖二十三、Chlorzoxazone + Rifamate併服或不併服HUCHE010 110 mg，Chlorzoxazone於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為INH控制組，給予Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150)；空心方塊為HUCHE010實驗組，給予Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150) + HUCHE010 (110 mg)。



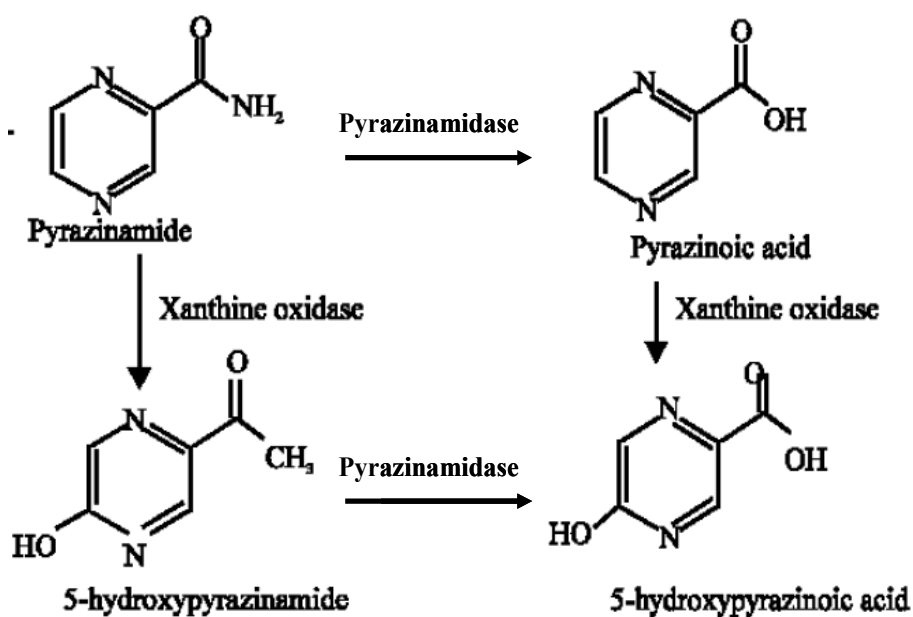
圖二十四、Chlorzoxazone + Rifamate併服或不併服HUCHE010 110 mg，Chlorzoxazone代謝物6-OH-Chlorzoxazone於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為INH控制組，給予Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150)；空心方塊為HUCHE010實驗組，給予Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150) + HUCHE010 (110 mg)。



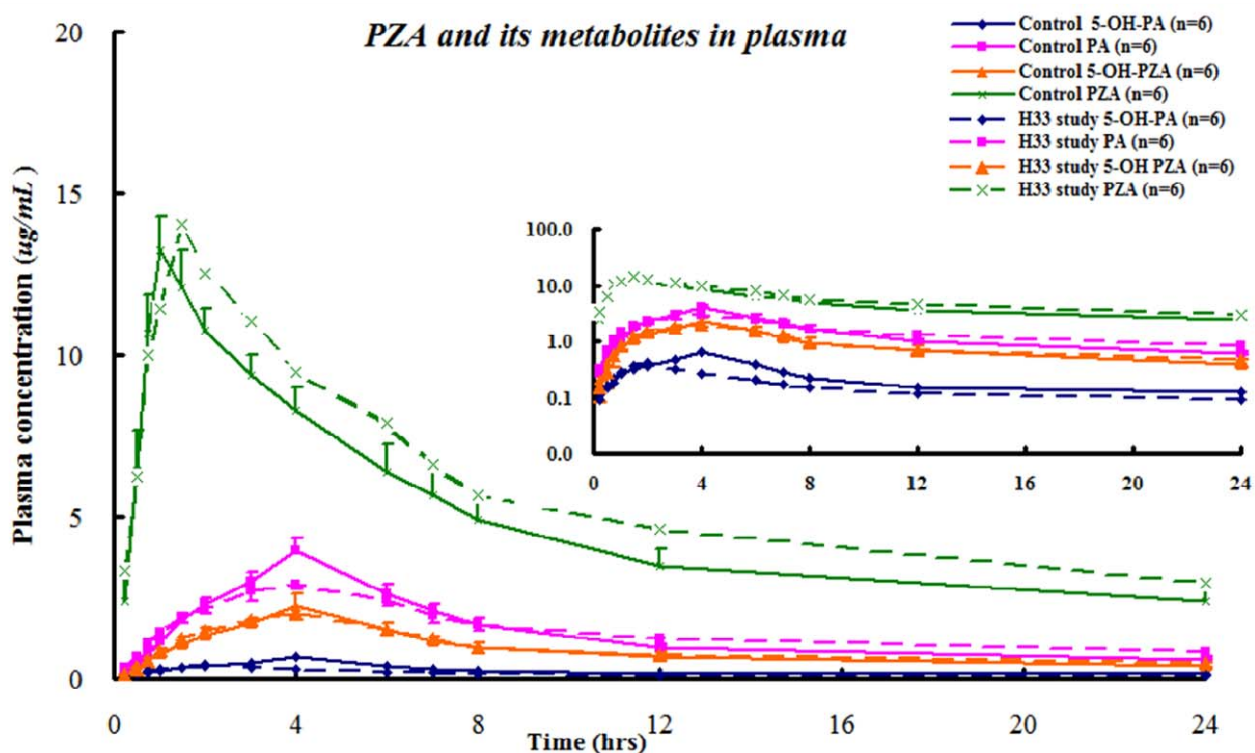
圖二十五、Chlorzoxazone + Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，Chlorzoxazone 於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為INH控制組，給予 Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150)；空心方塊為HUCHE033實驗組，給予Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360mg) + HUCHE010 (110mg)。



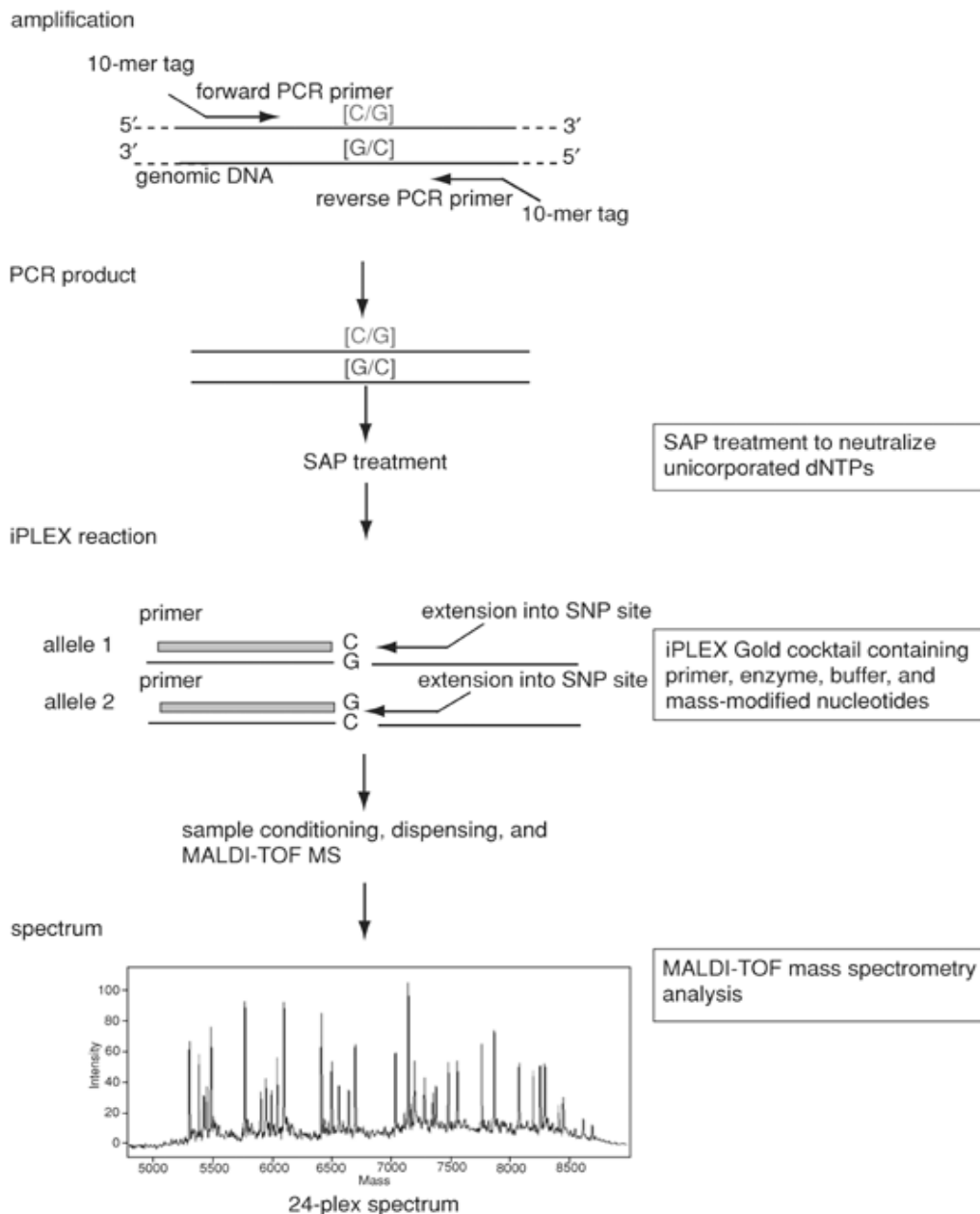
圖二十六、Chlorzoxazone + Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，Chlorzoxazone 代謝物 6-OH-Chlorzoxazone 於健康受試者血中濃度圖。實心三角形為 INH 控制組，給予 Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150)；空心方塊為 HUCHE033 實驗組，給予 Chlorzoxazone (500mg) + Rifamate (300/150) + HUCHE033 (360mg) + HUCHE010 (110mg)。



圖二十七、Pyrazinamide 於人體之代謝途徑



圖二十八、PZA 併服不併服 HUCHE033，PZA 藥物與其相關代謝物於健康受試者血中濃度變化，每組試驗人數為 6 位健康受試者



圖二十九、Sequenom MassARRAY® iPLEX Gold Platform 試驗流程示意圖

Analyte	Polarity	Precursor (m/z)	Product (m/z)	CE (eV)
Pyrazinamide	+	124.2	81	25
Isoniazid	+	138.3	121.3	20
Ethambutol	+	205.2	116.3	22
Rifampicin	+	823.6	791.6	23

Rifampicin-d3	+	826.6	794.6	33
Ethambutol-d4	+	209.2	120.3	21
Isoniazid-d4	+	142.3	125.3	20

表一、各成分質荷比的選擇

表二、各分析成分 Rifampicin、Isoniazid、Ethambutol、Pyrazinamide 不同日間安定性 (Intra-day stability)

PZA				
Analysis	Concentration (ng/ml)			
No.	0.1	0.3	4.5	9
1	0.113	0.339	4.59	9.57
2	0.105	0.32	4.59	9.3
3	0.114	0.358	5.2	9.93
N	6	6	6	6
Mean	0.111	0.339	4.8	9.6
SD	0.0049	0.019	0.352	0.316
%CV	4.5	5.6	7.3	3.3
% Diff	10.7	13.0	6.5	6.7

RIF				
Analysis	Concentration (ng/ml)			
No.	0.1	0.3	4.5	9
1	0.113	0.339	4.59	9.57
2	0.105	0.32	4.59	9.3
3	0.114	0.358	5.2	9.93
N	6	6	6	6
Mean	0.111	0.339	4.8	9.6
SD	0.0049	0.019	0.352	0.316
%CV	4.5	5.6	7.3	3.3
% Diff	10.7	13.0	6.5	6.7

ETH				
Analysis	Concentration (ng/ml)			
No.	0.05	0.15	2.25	4.5
1	0.043	0.152	2.23	4.95
2	0.0559	0.185	2.49	4.7
3	0.0555	0.15	2.61	4.81
N	6	6	6	6
Mean	0.051	0.162	2.4	4.8
SD	0.0073	0.020	0.194	0.125
%CV	14.3	12.1	8.0	2.6
% Diff	2.9	8.2	8.6	7.1

INZ				
Analysis	Concentration (ng/ml)			
No.	0.05	0.15	2.25	4.5
1	0.0475	0.156	2.48	4.56
2	0.0454	0.146	2.52	4.63
3	0.0544	0.139	2.56	4.86
N	6	6	6	6
Mean	0.049	0.147	2.5	4.7
SD	0.0047	0.009	0.040	0.157
%CV	9.6	5.8	1.6	3.4
% Diff	-1.8	-2.0	12.0	4.1

表三、各分析成分 Rifampicin、Isoniazid、Ethambutol、Pyrazinamide 同日内安定性 Inter-day stability

$$y=0.118x+0.00115(r=0.9991)$$

$$y=0.101x+0.00165(r=0.9997)$$

$$y=0.0989x+0.00119(r=0.9973)$$

$$y=0.102x+0.000624(r=0.9987)$$

$$y=0.0938x+0.00156(r=0.9994)$$

$$y=0.101x+0.00109(r=0.9999)$$

$$y=0.0948x+0.00522(r=0.9969)$$

$$y=0.0448x+0.00299(r=0.9959)$$

$$y=0.0361x+-0.000425(r=0.9985)$$

$$y=0.0369x+-0.00189(r=0.9985)$$

$$y=0.0331x+0.000237(0.9993)$$

$$y=0.0363x+-0.00169(r=0.9971)$$

RIF				
	LLOQ	LQC	MQC	HQC
1	109	116	102	97.4
2	95.3	97.2	98.6	93.8
3	105	108	104	95.4
4	114	104	93.7	91.7
5	104	114	106	99.0
6	113	109	96.5	95.9
mean	106.7	108.0	100.1	95.5
SD	6.9	6.8	4.7	2.6
CV	6.47	6.33	4.68	2.70

PZA				
	LLOQ	LQC	MQC	HQC
1	98.2	103.0	110.0	104.0
2	96.5	89.3	97.1	91.0
3	103.0	109.0	117.0	96.6
4	109.0	102.0	102.0	86.6
5	106.0	121.0	109.0	96.2
6	102.0	107.0	97.2	99.2
mean	102.5	105.2	105.4	95.6
SD	4.7	10.3	8.0	6.1
cv	4.57	9.83	7.55	6.40

$$y=0.266x+-0.00545(r=0.9990)$$

$$y=0.261x+-0.00161(r=0.9990)$$

$$y=0.246x+-0.00112(r=0.9980)$$

$$y=0.257x+-0.0014(r=0.9982)$$

$$y=0.252x+-0.0012(r=0.9994)$$

$$y=0.261x+-0.00116(r=0.9995)$$

$$y=0.411x+0.000835(r=0.9969)$$

$$y=0.39x+0.000102(r=0.9939)$$

$$y=0.331x+0.00181(r=0.9956)$$

$$y=0.338x+-0.000292(r=0.9992)$$

$$y=0.345x+-0.00245(r=0.9946)$$

$$y=0.353x+-0.000563(r=0.9887)$$

INZ				
	LLOQ	LQC	MQC	HQC
1	94.2	104.0	103.0	99.2
2	102.0	98.2	94.6	95.5
3	111.0	99.4	106.0	101.0
4	111.0	94.4	94.6	98.9
5	102.0	99.7	101.0	99.0
6	97.6	97.4	97.0	96.7
mean	103.0	98.9	99.4	98.4
SD	6.9	3.2	4.7	2.0
cv	6.68	3.20	4.74	2.00

EHT				
	LLOQ	LQC	MQC	HQC
1	88.8	113.0	92.8	92.0
2	96.6	126.0	87.3	113.0
3	113.0	96.2	102.0	96.2
4	110.0	95.7	87.7	95.4
5	106.0	116.0	97.2	93.8
6	101.0	88.4	101.0	83.1
mean	102.6	105.9	94.7	95.6
SD	9.0	14.6	6.4	9.8
cv	8.76	13.76	6.79	10.20

表四、各分析成分 Rifampicin、Isoniazid、Ethambutol、Pyrazinamide 分析其間安定性(post preparative stability)

Pyrazinamide	0 hr(4°C)				6 hr(4°C)			
	Nominal concentration (ng/mL)				Nominal concentration (ng/mL)			
	sample	0.1	0.3	4.5	9	0.1	0.3	4.5
1	0.113	0.339	4.59	9.57	0.13	0.357	5.03	9.42
2	0.105	0.32	4.59	9.3	0.119	0.348	4.66	9.35
3	0.114	0.358	5.2	9.93	0.149	0.343	5.19	9.61
Mean	0.11	0.34	4.79	9.60	0.13	0.35	4.96	9.46
SD	0.00	0.02	0.35	0.32	0.02	0.01	0.27	0.13
%CV	4.46	5.60	7.35	3.29	11.44	2.03	5.48	1.42
% Diff to 0 hour					19.88	3.05	3.48	-1.46

Isoniazid	0 hr(4°C)				6 hr(4°C)			
	Nominal concentration (ng/mL)				Nominal concentration (ng/mL)			
	sample	0.05	0.15	2.25	4.5	0.05	0.15	2.25
1	0.0475	0.156	2.48	4.56	0.0545	0.15	2.35	4.69
2	0.0454	0.146	2.52	4.63	0.0454	0.142	2.24	4.93
3	0.0544	0.139	2.56	4.86	0.0622	0.151	2.57	4.86
Mean	0.05	0.15	2.52	4.68	0.05	0.15	2.39	4.83
SD	0.05	0.14	0.04	0.16	0.01	0.00	0.17	0.12
%CV	0.05	0.14	1.59	3.35	15.56	3.34	7.04	2.56
% Diff to 0 hour					10.05	0.45	-5.29	3.06

rifampin	0 hr(4°C)				6 hr(4°C)			
	Nominal concentration (ng/mL)				Nominal concentration (ng/mL)			
	sample	0.1	0.30	4.5	9	0.1	0.30	4.5
1	0.113	0.339	4.59	9.57	0.13	0.357	5.03	9.42
2	0.105	0.32	4.59	9.3	0.119	0.348	4.66	9.35
3	0.114	0.358	5.2	9.93	0.149	0.343	5.19	9.61
Mean	0.11	0.34	4.79	9.60	0.13	0.35	4.96	9.46
SD	0.00	0.02	0.35	0.32	0.02	0.01	0.27	0.13
%CV	4.46	5.60	7.35	3.29	11.44	2.03	5.48	1.42
% Diff to 0 hour					19.88	3.05	3.48	-1.46

ethambutol	0 hr(4°C)				6 hr(4°C)			
	Nominal concentration (ng/mL)				Nominal concentration (ng/mL)			
	sample	0.05	0.15	2.25	4.5	0.05	0.15	2.25
1	0.043	0.152	2.23	4.95	0.0568	0.151	2.17	4.13
2	0.0559	0.185	2.49	4.7	0.0603	0.134	2.21	5.08
3	0.0555	0.15	2.61	4.81	0.042	0.149	2.67	5.4
Mean	0.05	0.16	2.44	4.82	0.05	0.14	2.35	4.87
SD	0.01	0.02	0.19	0.13	0.01	0.01	0.28	0.66
%CV	14.25	12.11	7.95	2.60	18.32	6.42	11.82	13.56
% Diff to 0 hour					3.04	-10.88	-3.82	1.04

表五、各分析成分 Rifampicin、Isoniazid、Ethambutol、Pyrazinamide 短期室溫安定性 (Short-term Temperature Stability)及貯液安地性分析(Stock Solution Stability)

Isoniazid			
LQC	inital	short-term temp. stability (4h)	stock solution stability (6h)
	0.114	0.116	0.123
	0.111	0.118	0.113
	0.117	0.11	0.124
<i>Mean±SD</i>	0.113±0.002	0.115±0.004	0.12±0.006
<i>dif%(Mean±SD)</i>		102±4	107±5
MQC	inital	short-term temp. stability (4h)	stock solution stability (6h)
	2.07	2.07	2.1
	2.23	2.41	1.99
	2.19	2.11	2.35
<i>Mean±SD</i>	2.16±0.083	2.197±0.186	2.147±0.184
<i>dif%(Mean±SD)</i>		101.5±9	99±9
HQC	inital	short-term temp. stability (4h)	stock solution stability (6h)
	4.79	4.17	4.45
	4.87	4.54	4.66
	4.32	4.76	4.61
<i>Mean±SD</i>	4.66±0.297	4.49±0.298	4.573±0.11
<i>dif%(Mean±SD)</i>		96±6	98±2

Ethambutol			
LQC	inital	short-term temp. stability (4h)	stock solution stability (6h)
	0.167	0.163	0.164
	0.131	0.153	0.178
	0.152	0.163	0.167
<i>Mean±SD</i>	0.149±0.025	0.16±0.006	0.17±0.007
<i>dif%(Mean±SD)</i>		107±4	114±5
MQC	inital	short-term temp. stability (4h)	stock solution stability (6h)
	2.39	2.92	2.52
	2.16	2.32	2.27
	2.35	2.76	2.53
<i>Mean±SD</i>	2.3±0.123	2.667±0.311	2.44±0.147
<i>dif%(Mean±SD)</i>		115±13	106±6
HQC	inital	short-term temp. stability (4h)	stock solution stability (6h)
	4.38	4.63	4.68
	4.86	4.77	5.00
	5.17	4.25	4.57
<i>Mean±SD</i>	4.803±0.398	4.55±0.269	4.75±0.223
<i>dif%(Mean±SD)</i>		95±6	99±5

表六、各分析成分 Rifampicin、Isoniazid、Ethambutol、Pyrazinamide 冷凍及解凍安定性分析(Freeze and Thaw stability)

rifampicin			pyrazinamide		
LQC	initial	After 3 cycle freeze and thaw	LQC	initial	After 3 cycle freeze and thaw
	0.250	0.247		0.61	0.532
	0.271	0.241		0.6	0.543
	0.264	0.235		0.638	0.480
	0.176	0.256		0.614	0.507
<i>Mean±SD</i>	0.245±0.009		<i>Mean±SD</i>	0.516±0.028	
<i>dif% (Mean±SD)</i>	101.9±3.7		<i>dif% (Mean±SD)</i>	85.1±4.6	
MQC	initial	After 3 cycle freeze and thaw	MQC	initial	After 3 cycle freeze and thaw
	4.160	3.810		8.06	7.69
	4.450	3.850		7.97	7.88
	4.310	3.850		7.83	8.00
	4.290	3.880		8.17	7.94
<i>Mean±SD</i>	3.838±0.029		<i>Mean±SD</i>	7.878±0.134	
<i>dif% (Mean±SD)</i>	89.4±0.668		<i>dif% (Mean±SD)</i>	98.4±1.7	
HQC	initial	After 3 cycle freeze and thaw	HQC	initial	After 3 cycle freeze and thaw
	8.570	7.380		17.9	16.70
	7.940	7.340		17.9	16.20
	8.590	7.320		17.7	15.80
	8.590	7.260		17.9	17.00
<i>Mean±SD</i>	7.325±0.05		<i>Mean±SD</i>	16.425±0.532	
<i>dif% (Mean±SD)</i>	87.0±0.594		<i>dif% (Mean±SD)</i>	92.0±3.0	
isoniazid			ethambutol		
LQC	initial	After 3 cycle freeze and	LQC	initial	After 3 cycle freeze and
	0.136	0.136		0.137	0.121
	0.128	0.135		0.137	0.125
	0.139	0.125		0.136	0.127
	0.136	0.135		0.136	0.127
<i>Mean±SD</i>	0.133±0.005		<i>Mean±SD</i>	0.125±0.003	
<i>dif% (Mean±SD)</i>	100.6±3.9		<i>dif% (Mean±SD)</i>	91.2±2.1	
MQC	initial	After 3 cycle freeze and	MQC	initial	After 3 cycle freeze and
	2.1	1.83		2.17	1.83
	2.13	1.88		2.2	1.89
	2.24	1.83		2.23	1.88
	2.12	1.88		2.3	2.05
<i>Mean±SD</i>	1.855±0.029		<i>Mean±SD</i>	1.913±0.095	
<i>dif% (Mean±SD)</i>	86.4±1.3		<i>dif% (Mean±SD)</i>	86.0±4.3	
HQC	initial	After 3 cycle freeze and	HQC	initial	After 3 cycle freeze and
	4.39	3.58		4.48	4.12
	4.35	3.66		4.66	4.21
	4.36	3.69		4.22	4.16
	4.38	3.70		4.29	3.99
<i>Mean±SD</i>	3.658±0.054		<i>Mean±SD</i>	4.120±0.094	
<i>dif% (Mean±SD)</i>	85.1±1.3		<i>dif% (Mean±SD)</i>	93.4±2.1	

表七、四合一藥物試製藥及 Rimstar 含量分析資料

Product Name	Rifampin	Isoniazid	Pyrazinamide	Ethambutol HCL
Rimstar	105.33%	98.23%	100.89%	97.4%
RIP111013T(Qstar)	105.9%	101.6%	97.8%	97.7%

表壹、四合一處方 RIP1051T(Qstar)及對照藥 Rimstar 於 30 人次人體相等性試驗的藥動學參數

成份	試驗藥	Tmax (hr)	Cmax (μ g/mL)	AUC _{0-∞} (hr * μ g/mL)	t _{1/2} (hr)
PZA	Rimstar	1.43 ± 0.86	26.85 ± 8.69	327.64 ± 77.46	8.91 ± 1.55
	Qstar	1.35 ± 1.05	26.17 ± 6.77	332.54 ± 70.6	8.98 ± 1.59
INH	Rimstar	1.08 ± 0.66	3.97 ± 2.13	12.45 ± 11.33	2.57 ± 1.29
	Qstar	0.78 ± 0.6	4.27 ± 1.94	13.33 ± 11.46	2.37 ± 1.03
EMB	Rimstar	2.94 ± 1.23	2.36 ± 0.87	13.75 ± 3.65	9.49 ± 2.99
	Qstar	2.82 ± 0.79	2.63 ± 1.08	13.59 ± 3.78	10.08 ± 3.41
RMP	Rimstar	2.09 ± 1.25	7.66 ± 2.88	43.06 ± 16.78	3.51 ± 3.02
	Qstar	1.88 ± 1.05	8.32 ± 2.45	45.79 ± 2.17	3.24 ± 0.65

Values are expressed as the mean ± SD.

表貳、四合一處方 RIP1051T (Qstar)與對照藥 Rimstar 於人體試驗之統計分析結果(n=36)

成份	藥動學參數	90%信賴區間
Isoniazid	ln(AUC _{0→∞})	96.6%~111.4%
	ln(AUC _{0→t})	96.5%~113.1%
	ln(Cmax)	90.5%~133.2%
Rifampicin	ln(AUC _{0→∞})	102.3%~115.0%
	ln(AUC _{0→t})	102.7%~115.8%
	ln(Cmax)	103.2%~119.2%
Pyrazinamide	ln(AUC _{0→∞})	96.5%~104.8%
	ln(AUC _{0→t})	96.5%~104.7%
	ln(Cmax)	91.4%~106.4%
Ethambutol	ln(AUC _{0→∞})	93.5%~104.3%
	ln(AUC _{0→t})	93.3%~104.9%
	ln(Cmax)	96.1%~126.5%

表八、Rifamate併服或不併服 HUCHE033 360 mg，INH 於健康受試者之藥物

動力學參數，數值之計算為mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + HUCHE033 360 mg PK study in human

Parameters (INH)	A: Control group (N=8)		B: HUCHE033 group (N=8)		B/A
T _{max} (hr)	0.59	± 0.19	0.81	± 0.50	1.37
C _{max} (ug/mL)	2.10	± 0.70	1.56	± 0.46	0.74
AUC _t (hr*ug/mL)	5.19	± 1.69	4.63	± 1.51	0.89
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	5.62	± 1.81	5.09	± 1.57	0.90
t _{1/2} (hr)	3.09	± 0.65	3.32	± 0.63	1.07
V _d /F (L/hr)	123.69	± 25.40	150.16	± 45.27	1.21

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表九、Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg，AINH於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + HUCHE033 360 mg PK study in human

Parameters (AINH)	A: Control group (N=8)		B: HUCHE033 group (N=8)		B/A
Tmax (hr)	0.81	± 0.32	1.44	± 0.85	1.77
Cmax (ug/mL)	1.54	± 0.43	1.36	± 0.33	0.88
AUCt (hr*ug/mL)	9.62	± 3.96	9.02	± 3.57	0.94
AUCinfinity (hr*ug/mL)	10.49	± 3.84	10.13	± 3.33	0.97
t1/2 (hr)	4.23	± 0.52	4.25	± 0.63	1.01

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表十、Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg，INA於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + HUCHE033 360 mg PK study in human

Parameters (INA)	A: Control group (N=8)		B: HUCHE033 group (N=8)		B/A
Tmax (hr)	0.78	± 0.34	1.50	± 0.88	1.92
Cmax (ug/mL)	0.77	± 0.38	0.52	± 0.24	0.68 *
AUCt (hr*ug/mL)	4.40	± 2.94	3.04	± 1.48	0.69
AUCinfinity (hr*ug/mL)	4.93	± 2.97	3.52	± 1.57	0.71
t1/2 (hr)	3.96	± 1.55	3.90	± 1.81	0.99
Metabolic Ratio	0.45	± 0.40	0.33	± 0.20	0.73

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01. Metabolic Ratio: AUC_{tINA} / AUC_{tINH+AINH}

表十一、Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg，rifampin於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + HUCHE033 360 mg PK study in human

Parameters (RIF)	A: Control group (N=8)		B: HUCHE033 group (N=8)		B/A
Tmax (hr)	1.22	± 0.54	1.84	± 1.16	1.51
Cmax (ug/mL)	6.79	± 1.81	6.05	± 1.99	0.89
AUCt (hr*ug/mL)	36.53	± 8.98	29.82	± 6.17	0.82
AUCinfinity (hr*ug/mL)	40.09	± 7.93	33.16	± 6.76	0.83
t1/2 (hr)	3.97	± 0.56	3.21	± 0.92	0.81
Vd /F (L/hr)	44.25	± 10.17	42.80	± 11.49	0.97

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表十二、Rifamate併服或不併服HUCHE010 110 mg，INH於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg PK study in human							
Parameters (INH)	A: Control group (N=4)			B: HUCHE010 group (N=4)			B/A
T _{max} (hr)	0.69	±	0.24	0.50	±	0.20	0.73
C _{max} (ug/mL)	2.40	±	0.81	3.00	±	1.61	1.25
AUC _t (hr*ug/mL)	8.30	±	6.70	6.58	±	3.43	0.79
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	9.46	±	8.51	7.07	±	3.84	0.75
t _{1/2} (hr)	4.79	±	4.35	2.98	±	0.71	0.62
V _d /F (L/hr)	108.87	±	7.78	103.00	±	30.29	0.95

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表十三、Rifamate 併服或不併服 HUCHE010 110 mg，AINH 於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為 mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg PK study in human							
Parameters (AINH)	A: Control group (N=4)			B: HUCHE010 group (N=4)			B/A
Tmax (hr)	1.75	±	1.54	2.06	±	2.63	1.18
Cmax (ug/mL)	1.27	±	0.70	1.33	±	0.76	1.05
AUC _t (hr*ug/mL)	8.51	±	4.29	8.80	±	4.54	1.03
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	9.71	±	4.10	9.91	±	4.51	1.02
t _{1/2} (hr)	4.81	±	1.53	4.42	±	0.67	0.92

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表十四、Rifamate 併服或不併服 HUCHE010 110 mg，INA 於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為 mean ± SD

Parameters (INA)	A: Control group (N=4)			B: HUCHE010 group (N=4)			B/A
Tmax (hr)	1.38	±	1.09	1.63	±	0.95	1.18
Cmax (ug/mL)	0.47	±	0.29	0.43	±	0.22	0.91
AUC _t (hr*ug/mL)	2.87	±	1.63	2.60	±	1.17	0.91
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	3.59	±	1.99	2.97	±	1.23	0.83
t _{1/2} (hr)	4.50	±	0.81	3.64	±	0.36	0.81
Metabolic Ratio	0.24	±	0.15	0.22	±	0.09	0.92

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01. Metabolic Ratio: AUC_{t,INA} / AUC_{t,INH+AINH}

表十五、Rifamate 併服或不併服 HUCHE010 110 mg，rifampin 於健康受試

者之藥物動力學參數，數值之計算為 mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg PK study in human

Parameters (RIF)	A: Control group (N=4)		B: HUCHE010 group (N=4)		B/A
T _{max} (hr)	0.88	± 0.14	1.19	± 0.55	1.36
C _{max} (ug/mL)	9.01	± 1.71	5.65	± 0.59	0.63
AUC _t (hr*ug/mL)	34.88	± 9.30	26.91	± 6.24	0.77
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	37.99	± 10.80	28.11	± 6.58	0.74
t _{1/2} (hr)	2.82	± 0.87	2.62	± 1.22	0.93
V _d /F (L/hr)	31.86	± 2.86	39.93	± 15.66	1.25

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表十六、Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，INH於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg + HUCHE033 360 mg]

Parameters (INH)	A: Control group (N=4)		B: HUCHE010+033 group (N=4)		B/A
T _{max} (hr)	0.69	± 0.24	0.50	± 0.00	0.73
C _{max} (ug/mL)	2.40	± 0.81	2.55	± 0.84	1.06
AUC _t (hr*ug/mL)	8.30	± 6.70	6.41	± 3.19	0.77
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	9.46	± 8.51	6.84	± 3.46	0.72
t _{1/2} (hr)	4.79	± 4.35	3.06	± 0.25	0.64
V _d /F (L/hr)	108.87	± 7.78	112.67	± 42.90	1.03

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表十七、Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，AINH於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg + HUCHE033 360 mg P

Parameters (AINH)	A: Control group (N=4)		B: HUCHE010+033 group (N=4)		B/A
T _{max} (hr)	1.75	± 1.54	1.81	± 1.38	1.04
C _{max} (ug/mL)	1.27	± 0.70	1.53	± 0.84	1.20
AUC _t (hr*ug/mL)	8.51	± 4.29	9.31	± 4.49	1.09
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	9.71	± 4.10	10.62	± 4.51	1.09
t _{1/2} (hr)	4.81	± 1.53	4.67	± 1.01	0.97

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表十八、Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，INA 於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為 mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg + HUCHE033 360 mg PK s							
Parameters (INA)	A: Control group (N=4)			B: HUCHE010+033 group (N=4)		B/A	
Tmax (hr)	1.38	±	1.09	1.63	±	1.09	1.18
Cmax (ug/mL)	0.47	±	0.29	0.33	±	0.19	0.70
AUCt (hr*ug/mL)	2.87	±	1.63	1.65	±	0.94	0.58
AUCinfinity (hr*ug/mL)	3.59	±	1.99	2.11	±	1.11	0.59 *
t1/2 (hr)	4.50	±	0.81	3.72	±	0.78	0.83
Metabolic Ratio	0.24	±	0.15	0.13	±	0.07	0.57

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01. Metabolic Ratio: $AUC_{t\text{INA}} / AUC_{t\text{INH}+\text{AINH}}$

表十九、Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，rifampin於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為mean ± SD

Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg + HUCHE033 360 mg							
Parameters (RIF)	A: Control group (N=4)			B: HUCHE010+033 group (N=4)		B/A	
Tmax (hr)	0.88	±	0.14	1.50	±	1.06	1.71
Cmax (ug/mL)	9.01	±	1.71	6.20	±	1.95	0.69
AUCt (hr*ug/mL)	34.88	±	9.30	29.71	±	10.06	0.85
AUCinfinity (hr*ug/mL)	37.99	±	10.80	31.83	±	10.51	0.84
t1/2 (hr)	2.82	±	0.87	2.55	±	0.46	0.91
Vd /F (L/hr)	31.86	±	2.86	36.55	±	8.81	1.15

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表二十、Chlorzoxazone + Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg，

Chlorzoxazone 於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為 mean ± SD

CZX 500mg with Rifamate 300/150 vs CZX 500mg with Rifamate 300/150 + HUCHE033 360 mg PK study in human

Parameters (CZX)	A: Control group (N=8)		B: HUCHE033 group (N=8)		B/A
T _{max} (hr)	2.00	± 0.46	2.31	± 0.92	1.16
C _{max} (ug/mL)	16.71	± 3.91	16.71	± 5.21	1.00
AUC _t (hr*ug/mL)	73.91	± 26.41	79.69	± 23.76	1.08
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	74.92	± 27.22	81.08	± 24.16	1.08
t _{1/2} (hr)	1.52	± 0.24	1.39	± 0.45	0.91
V _d /F (L/hr)	15.80	± 4.84	12.74	± 3.70	0.81

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表二十一、Chlorzoxazone + Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg，Chlorzoxazone 代謝物 6-OH-Chlorzoxazone 於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為 mean ± SD

CZX 500mg with Rifamate 300/150 vs CZX 500mg with Rifamate 300/150 + HUCHE033 360 mg PK study in human

Parameters (6-OH CZX)	A: Control group (N=8)		B: HUCHE033 group (N=8)		B/A
T _{max} (hr)	4.88	± 1.25	4.25	± 1.16	0.90
C _{max} (ug/mL)	1.13	± 0.18	1.14	± 0.31	0.83
AUC _t (hr*ug/mL)	6.71	± 0.90	6.54	± 1.66	0.77
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	7.08	± 0.96	6.91	± 1.70	0.76
t _{1/2} (hr)	1.99	± 0.30	1.95	± 0.79	0.87
Metabolic Ratio	0.10	± 0.02	0.09	± 0.03	0.71

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01. Metabolic Ratio: AUC_{t6OH-CZX} / AUC_{tCZX}

表二十二、Chlorzoxazone + Rifamate 併服或不併服 HUCHE010 110 mg，Chlorzoxazone 於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為 mean ± SD

CZX 500mg with Rifamate 300/150 vs CZX 500mg with Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg PK study in human

Parameters (CZX)	A: Control group (N=4)		B: HUCHE010 group (N=4)		B/A
T _{max} (hr)	2.50	± 1.00	1.44	± 0.66	0.58
C _{max} (ug/mL)	23.60	± 6.85	19.00	± 1.53	0.81
AUC _t (hr*ug/mL)	108.10	± 38.06	94.68	± 23.34	0.88
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	110.49	± 41.55	98.80	± 28.52	0.89
t _{1/2} (hr)	1.45	± 0.55	1.68	± 0.81	1.16
V _d /F (L/hr)	9.46	± 0.85	11.86	± 2.31	1.25

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表二十三、Chlorzoxazone + Rifamate 併服或不併服 HUCHE010 110 mg，Chlorzoxazone 代謝物 6-OH-Chlorzoxazone 於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為 mean ± SD

CZX 500mg with Rifamate 300/150 vs CZX 500mg with Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg PK study in human

Parameters (6-OH CZX)	A: Control group (N=4)		B: HUCHE010 group (N=4)		B/A
T _{max} (hr)	4.50	± 1.73	3.19	± 2.30	0.71
C _{max} (ug/mL)	0.94	± 0.14	0.97	± 0.32	1.03
AUC _t (hr*ug/mL)	5.83	± 0.67	5.80	± 0.68	0.99
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	6.33	± 1.20	6.09	± 0.43	0.96
t _{1/2} (hr)	2.08	± 1.03	1.93	± 0.61	0.93
Metabolic Ratio	0.06	± 0.02	0.06	± 0.02	1.11

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01. Metabolic Ratio: AUC_{t60H-CZX} / AUC_{tCZX}

表二十四、Chlorzoxazone + Rifamate併服或不併服HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，Chlorzoxazone於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為mean ± SD

CZX 500mg with Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + CZX 500mg with Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg + HUCHE033 360 mg PK study in human

Parameters (CZX)	A: Control group (N=4)		B: HUCHE010+033 group (N=4)		B/A
T _{max} (hr)	2.50	± 1.00	2.25	± 0.87	0.90
C _{max} (ug/mL)	23.60	± 6.85	17.88	± 3.02	0.76
AUC _t (hr*ug/mL)	108.10	± 38.06	98.81	± 32.41	0.91
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	110.49	± 41.55	101.58	± 36.42	0.92
t _{1/2} (hr)	1.45	± 0.55	1.53	± 0.54	1.06
V _d /F (L/hr)	9.46	± 0.85	11.01	± 1.47	1.16

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01.

表二十五、Chlorzoxazone + Rifamate 併服或不併服 HUCHE033 360 mg + HUCHE010 110 mg，Chlorzoxazone 代謝物 6-OH-Chlorzoxazone 於健康受試者之藥物動力學參數，數值之計算為 mean ± SD

CZX 500mg with Rifamate 300/150 vs Rifamate 300/150 + CZX 500mg with Rifamate 300/150 + HUCHE010 110 mg + HUCHE033 360 mg PK study in human

Parameters (6-OH CZX)	A: Control group (N=4)		B: HUCHE010+033 group (N=4)		B/A
T _{max} (hr)	4.50	± 1.73	4.25	± 1.26	0.94
C _{max} (ug/mL)	0.94	± 0.14	0.99	± 0.25	1.05
AUC _t (hr*ug/mL)	5.83	± 0.67	6.31	± 1.01	1.08
AUC _{infinity} (hr*ug/mL)	6.33	± 1.20	6.82	± 0.61	1.08
t _{1/2} (hr)	2.08	± 1.03	2.28	± 1.43	1.10
Metabolic Ratio	0.06	± 0.02	0.07	± 0.02	1.20

Data represent mean±S.D.. *p<0.05, **p<0.01. Metabolic Ratio: AUC_{t60H-CZX} / AUC_{tCZX}

表二十六、Xanthine oxidase對偶基因多型性發生頻率

SNP ID	Variant	Substitution	Function	Frequency
rs207440	3796 G>A	Glu 1239 GLu	cds-synon	97.16%/2.84%
rs1042036	3528 C>G	Pro 1050 Arg	missense	100%
rs45619033	3350 G>C	Val 1091 Leu	missense	99.72%/0.28%
rs45604135	3163 C>T	Gly 1028 Gly	cds-synon	98.6%/1.4%
rs1884725	3109 C>T	Phe 1010 Phe	cds-synon	80.23%/19.77%
rs2295475	2290 C>T	Ile 737 Ile	cds-synon	69.21%/30.79%
rs72549367	2243 A>T	Lys 722 X	nonsense	100%
rs17011368	2186 A>G	Ile 703 Val	missense	95.53%/4.47%
rs17323225	2015 A>G	Ile 646 Val	missense	98.6%/1.4%
rs61731081	1880 G>C/T	Glu 601 Gln/X	missense/nonsense	100%
rs61731080	1681 C>A/G	Asp 534 Glu	missense	100%
rs45471294	1408 G>A	Lys 443 Lys	cds-synon	99.16%/0.84%
rs34929837	1263 A>T	Lys 395 Met	missense	98.6%/1.4%
rs45612738	1213 C>T	Gly 378 Gly	cds-synon	98.6%/1.4%
rs4407290	916 C>T	Val 279 Val	cds-synon	96.88%/3.12%
rs1126469	651 T>A	Leu 191 His	missense	100%
rs72549369	524 C>T	Arg 149 Cys	missense	100%
rs36208390	14 G>C		5'UTR	99.15%/0.85%

The location of SNPs and frequencies of the XO gene polymorphisms in 96 Japanese.

表二十七、Xanthine oxidase single nucleotide polymorphism (SNP) 引子設計DNA序列

SNP ID.	Primer sequences		
	PCR forward primer	PCR reverse primer	Extension primer
rs566362	ACGTTGGATGCTGTGCAAAACC AACCTTCC	ACGTTGGATGAGCACTCGGCAAT GAGCATC	AAACCAACCTTCCCTCCAA
rs1884725	ACGTTGGATGAGCGGAGATGGA CACAATTC	ACGTTGGATGTTCCCACCAAGTT TGGAAT	cGATTCAGAAAAGGAACTGT
rs2295475	ACGTTGGATGCACTGTGAGGGA TCTCACTG	ACGTTGGATGTGCAGTGAGTCTC CAGGIAG	CCCAGGGGAGATATAACAT
rs17011368	ACGTTGGATGGCTCAGGTCCAT AAAAGGAG	ACGTTGGATGCCTGCTIAAAAGCC ACATTC	CCATAAAAAGCAGTTGTTCTTIA
rs72549369	ACGTTGGATGTTGGAGGATGGGT CTGIAGC	ACGTTGGATGCCTGCACTGACAT TGCAGTT	gtTCTGIAGCCTGTGCAGC

表二十八、107位TB臨床患者服用抗結核藥物之尿液檢品PZA及其代謝物分析結果

Groups (No.)	Concentration in urine ($\mu\text{g/ml}$) x Risk factor ^a			
	5-OH-PA (x 2.32)	PA (x 1.44)	5-OH-PZA (x 0.53)	PZA (x 1.00)
5 X Hepatotoxic (n=4) Mean \pm S.E.M.	2820 \pm 414^d	450 \pm 262	151 \pm 78^d	7 \pm 1^{a,b}
2X Hepatotoxic (n=20) Mean \pm S.E.M.	1965 \pm 154^b	556 \pm 117^b	264 \pm 51^b	22 \pm 3
No hepatotoxic (n=61) Mean \pm S.E.M.	659 \pm 84	164 \pm 27	66 \pm 10	18 \pm 6

^aRisk factor - IC₅₀ of PZA/ IC₅₀ of metabolite.

Statistical analysis: Anova and LSD test

^a*p* < 0.005 relative to 2X hepatotoxic, ^b*p* < 0.005 relative to No hepatotoxic group.

^c*p* < 0.01 relative to 2X hepatotoxic, ^d*p* < 0.01 relative to No hepatotoxic group.

^e*p* < 0.05 relative to 2X hepatotoxic, ^f*p* < 0.05 relative to No hepatotoxic group.

表二十九、107位TB臨床患者服用抗結核藥物之尿液檢品PZA相關代謝物代謝比例分析結果

Relative ratio ^a	Groups (No.)		
	No hepatotoxic (n=61)	2X Hepatotoxic (n=20)	5X hepatotoxic (n=4)
5-OH-PA/PZA	49.0 \pm 6.3	128.9 \pm 20.1^b	523.6 \pm 79.6^{a,b}
PA/PZA	10.7 \pm 1.5	32.7 \pm 7.3^b	46.3 \pm 15.0^b
5-OH-PZA/PZA	3.9 \pm 0.5	15.5 \pm 3.3^b	15.6 \pm 6.2

^aRelative ratio = PZA metabolites/ PZA.

Statistical analysis: Anova and LSD test

^a*p* < 0.005 relative to 2X hepatotoxic, ^b*p* < 0.005 relative to No hepatotoxic group.

^c*p* < 0.01 relative to 2X hepatotoxic, ^d*p* < 0.01 relative to No hepatotoxic group.

^e*p* < 0.05 relative to 2X hepatotoxic, ^f*p* < 0.05 relative to No hepatotoxic group.

表三十、Xanthine oxidase 對偶基因多型性於 167 位台灣 TB 患者之發生頻率

SNP ID.	Alleles	N ^a	Genotype frequency*		
			Wild-type	Heterozygous	Homozygous
rs566362	G/A	158	1 (158/158)	0 (0/158)	0 (0/158)
rs1884725	G/A	167	0.725 (121/167)	0.251 (42/167)	0.024 (4/167)
rs2295475	G/A	165	0.515 (85/165)	0.388 (64/165)	0.097 (16/165)
rs17011368	T/C	166	0.904 (150/166)	0.096 (16/166)	0 (0/166)
rs72549369	C/T	167	1 (167/167)	0 (0/167)	0 (0/167)

a: 167 subjects were TB patients.

* Data are presented as observed frequency (subtype subject/ total subject).

表三十一、Xanthine oxidase 對偶基因多型性與 PZA 肝毒性之風險評估

SNP ID.	Hepatotoxicity ^a		Odds ratio	p value
	Present (n=24)	Absent ((n=61)		
rs1884725				
GG	11	50	5.372	0.002
GA+AA	13	11		
rs2295475				
GG	2	33	12.964	0.000
GA+AA	22	28		
rs17011368				
TT	22	50	0.413	0.334
TC+CC	2	11		

^a: Subjects were TB patients.

Statistical analysis: Crosstabs chi-square test

表三十二、PZA 併服不併服 HUCHE033，PZA 藥物與其相關代謝物於健康受試者體內藥物動力學參數分析結果，每組試驗人數為 6 位健康受試者

PK parameters		PZA-control (C, n=6)	H33-study (S, n=6)	Fold (S/C)
PZA	T_{max} (hr)	1.08 ± 0.20	1.42 ± 0.38	1.31
	C_{max} (ug/ml)	14.49 ± 0.76	14.76 ± 0.51	1.02
	AUC_t (hr*ug/ml)	127.27 ± 14.71	150.40 ± 19.72	1.08
	AUC_{inf} (hr*ug/ml)	141.60 ± 13.16	159.20 ± 11.64	1.09
	T_{1/2} (hr)	10.51 ± 1.44	10.61 ± 1.27	1.01
PA	T_{max} (hr)	4.00 ± 0.00	3.83 ± 0.41	0.96
	C_{max} (ug/ml)	3.96 ± 0.40	3.02 ± 0.19	0.76
	AUC_t (hr*ug/ml)	35.58 ± 2.60	31.93 ± 3.73	0.90
	AUC_{inf} (hr*ug/ml)	40.90 ± 2.50	35.50 ± 4.64	0.87
5-OH-PZA	T_{max} (hr)	4.00 ± 0.00	3.83 ± 0.41	0.96
	C_{max} (ug/ml)	2.38 ± 0.34	2.19 ± 0.31	0.92
	AUC_t (hr*ug/ml)	24.37 ± 3.02	26.65 ± 4.56	1.09
	AUC_{inf} (hr*ug/ml)	26.71 ± 3.19	29.83 ± 4.05	1.12
5-OH-PA	T_{max} (hr)	4.00 ± 0.00	2.17 ± 0.41	0.54^a
	C_{max} (ug/ml)	0.66 ± 0.06	0.45 ± 0.04	0.68^a
	AUC_t (hr*ug/ml)	7.41 ± 0.73	5.42 ± 0.72	0.73^b
	AUC_{inf} (hr*ug/ml)	8.13 ± 0.67	6.13 ± 0.64	0.75^b

Statistical analysis: TTest.

^a*p* < 0.005, ^b*p* < 0.01, ^c*p* < 0.05 compare to Study group.

表三十三、PZA 併服不併服 HUCHE033，PZA 藥物與其相關代謝物於健康受試者體內藥物動力學參數代謝比例分析結果

Metabolic ratio		PZA-control (C, n=6)	H33-study (S, n=6)	Fold (S/C)
5-OH-PA /PZA	AUC_t	5.92 ± 1.13	3.60 ± 0.43	0.61^b
	AUC_{inf}	5.80 ± 0.90	3.61 ± 0.31	0.62^b
PA/PZA	AUC_t	28.23 ± 3.60	21.35 ± 3.20	0.76^b
	AUC_{inf}	29.48 ± 3.64	21.10 ± 3.19	0.72^b
5-OH-PZA/PZA	AUC_t	17.58 ± 5.51	17.73 ± 2.93	1.01
	AUC_{inf}	18.72 ± 2.36	17.93 ± 2.79	0.96

Metabolic ratio = Ratio of plasma AUC with PZA metabolites / PZA

Statistical analysis: TTest.

^a*p* < 0.005, ^b*p* < 0.01, ^c*p* < 0.05 compare to Study group.

表三十四. Risk for Anti-tuberculosis Drug-induced Hepatitis in Relation to NAT2 Genotypes

SNP ID	Hepatotoxicity		Odds Ratio	p-value
	Absent (n = 252)	Present (n = 56)		
rs1799931				
GG	175	34	Reference	
GA	75	18	1.235	0.512
AA	2	4	10.294	0.009
GA+AA	77	22	1.471	0.206
rs179930				
GG	150	25	Reference	
GA	87	25	1.724	0.082
AA	15	6	2.400	0.098
GA+AA	102	31	1.824	0.042
rs11996129				
TT	148	24	Reference	
TC	87	25	1.772	0.070
CC	17	7	2.539	0.062
TC+CC	104	32	1.897	0.030
rs1961456				
GG	120	18	Reference	
GA	104	24	1.538	0.204
AA	28	14	3.333	0.004
GA+AA	132	38	1.919	0.035
rs1112005				
CC	150	25	Reference	
CT	85	23	1.624	0.129
TT	17	7	2.471	0.070
CT+TT	102	31	1.824	0.042
rs1041983				
CC	79	15	Reference	
CT	126	22	0.920	0.818
TT	46	19	2.175	0.047
CT+TT	172	41	1.255	0.491
rs2087852				
TT	149	23	Reference	
TC	86	26	1.959	0.034
CC	17	7	2.668	0.051
TC+CC	105	25	2.076	0.014

表三十五. Risk for Anti-tuberculosis Drug-induced Hepatitis in Relation to CYP2E1 and GSTM1 Genotypes

SNP ID	Hepatotoxicity		Odds Ratio	p-value
	Absent (n = 252)	Present (n = 56)		
CYP2E1				

rs2249695				
CC	90	23	Reference	
CT	122	21	0.674	0.234
TT	37	12	1.269	0.557
CT+TT	162	33	0.797 (0.818)	0.452 (0.297)
rs2031921				
TT	153	35	Reference	
TC	78	17	0.953	0.882
CC	12	4	1.457	0.535
TC+CC	90	21	1.020 (1.038)	0.948 (0.507)
rs2070676				
CC	160	33	Reference	
GC	87	21	1.170	0.611
GG	4	1	1.212	0.865
CG+GG	91	22	1.172 (1.223)	0.602 (0.301)
rs2515641				
CC	160	33	Reference	
TC	85	21	1.198	0.560
TT	4	1	1.212	0.865
CT+TT	89	22	1.199 (1.229)	0.553 (0.296)
rs3813865				
GG	161	33	Reference	
GC	85	21	1.205	0.546
CC	6	2	1.626	0.562
GC+CC	91	23	1.233 (1.461)	0.487 (0.13)
GSTM1				
rs2071487				
null	147	30	Reference	
T0 or TT	105	25	1.167 (1.343)	0.607 (0.199)

表三十六. Risk analysis of CYP2E1 vs. NAT2 SNP combinations in TB patients (Combined)

SNP-SNP combination		Risk group		Hepatotoxicity		Odds ratio	p-value
CYP2E1	NAT2	(% of population)		Abscent (%)	Present (%)		
rs2249695	rs1799931	Low	153 (98%)	132 (86%)	21 (14%)	12.571	0.042*
		High	3 (2%)	1 (33%)	2 (67%)		
	rs1961456	Low	93 (82%)	83 (89%)	10 (11%)	5.533	0.003**
		High	20 (18%)	12 (60%)	8 (40%)		
	rs1041983	Low	232 (65%)	206 (89%)	26 (11%)	2.960	0.000***
		High	125 (35%)	91 (73%)	34 (27%)		
	rs1112005	Low	294 (83%)	253 (86%)	41 (14%)	2.498	0.011*
		High	59 (17%)	42 (71%)	17 (29%)		
	rs1799930	Low	286 (81%)	245 (86%)	41 (14%)	2.289	0.016*
		High	65 (19%)	47 (72%)	18 (28%)		
	rs2087852	Low	277 (77%)	240 (87%)	37 (13%)	2.529	0.004**
		High	82 (23%)	59 (72%)	23 (28%)		
	rs11996129	Low	280 (79%)	240 (86%)	40 (14%)	2.264	0.013*
		High	73 (21%)	53 (73%)	20 (27%)		

表三十七. Risk for Anti-tuberculosis Drug-induced Hepatitis in Relation to Various Haplotypes of NAT2 SNPs combinations , results of a retrospective study.

NAT2 haplotype	Risk group (% of population)	Hepatotoxicity		Odds Ratio	p-value
		Absent (% of each group)	Present (% of each group)		
Haplotype*4 (rs1961456 * rs1799931 * rs2087852 * rs1041983)	Low (71%)	192 (88%)	26 (12%)	3.692	<0.001
	High (29%)	60 (67%)	30 (33%)		
Haplotype*3-1 (rs1961456 * rs1799931 * rs2087852)	Low (73%)	198 (88%)	27 (12%)	3.938	<0.001
	High (27%)	54 (65%)	29 (35%)		
Haplotype*3-2 (rs1961456 * rs1799931 * rs1041983)	Low (71%)	193 (88%)	26 (12%)	3.840	<0.001
	High (29%)	58 (66%)	30 (34%)		
Haplotype*3-3 (rs1961456 * rs2087852 * rs1041983)	Low (79%)	209 (86%)	33 (14%)	3.468	<0.001
	High (21%)	42 (65%)	23 (35%)		
Haplotype*3-4 (rs1799931 * rs2087852 * rs1041983)	Low (79%)	208 (86%)	35 (14%)	2.836	<0.001
	High (21%)	44 (68%)	21 (32%)		
Haplotype*2-1 (rs1961456 * rs1799931)	Low (74%)	200 (88%)	27 (12%)	4.131	<0.001
	High (26%)	52 (64%)	29 (36%)		
Haplotype*2-2 (rs1961456 * rs1041983)	Low (80%)	212 (86%)	35 (14%)	3.262	<0.001
	High (20%)	39 (65%)	21 (35%)		
Haplotype*2-3 (rs1961456 * rs2087852)	Low (88%)	228 (84%)	42 (16%)	3.167	0.001
	High (12%)	24 (63%)	14 (37%)		

表三十八. Risk for Anti-tuberculosis Drug-induced Hepatitis in Relation to Various Haplotypes of NAT2 SNPs combinations, results of a prospective study.

SNP-SNP combination	Low risk group			High risk group			Odds ratio	Significance
	N (%)	Hepatotoxicity		N (%)	Hepatotoxicity			
		Abscent	Present		Abscent	Present		
rs1961456 * rs1799931	37 (70%)	36	1	16 (30%)	13	3	8.31	0.042
rs1961456 * rs2087852	22 (40%)	21	1	33 (60%)	30	3	2.10	0.525
rs1961456 * rs1799930	23 (44%)	22	1	29 (56%)	26	3	2.54	0.650
rs1961456 * rs1041983	19 (35%)	18	1	35 (65%)	32	3	1.69	0.658
rs1961456 * rs1112005	27 (51%)	26	1	26 (49%)	24	2	2.17	0.530
rs1961456 * rs11996129	22 (42%)	21	1	31 (58%)	28	3	2.25	0.486
rs1799931 * rs2087852	38 (73%)	37	1	14 (27%)	11	3	10.09	0.024
rs1799931 * rs1799930	42 (81%)	40	2	10 (19%)	8	2	5.00	0.104
rs1799931 * rs1041983	32 (60%)	31	1	21 (40%)	18	3	5.17	0.132
rs1799931 * rs1112005	44 (86%)	42	2	7 (14%)	6	1	3.50	0.309
rs1799931 * rs11996129	37 (74%)	36	1	13 (26%)	10	3	10.80	0.020
rs2087852 * rs1041983	19 (35%)	18	1	35 (65%)	32	3	1.98	0.658
rs2087852 * rs1799930	23 (45%)	22	1	28 (55%)	25	3	2.64	0.708
rs2087852 * rs1112005	30 (55%)	29	1	25 (45%)	23	2	2.52	0.448
rs2087852 * rs11996129	22 (42%)	21	1	31 (58%)	28	3	2.25	0.486
rs1041983 * rs1799930	20 (38%)	19	1	32 (62%)	29	3	1.97	0.565
rs1041983 * rs1112005	21 (40%)	20	1	31 (60%)	29	2	1.38	0.798
rs1041983 * rs11996129	20 (38%)	19	1	32 (62%)	29	3	1.97	0.565
rs1799930 * rs1112005	27 (54%)	26	1	23 (46%)	21	2	2.48	0.459
rs1799930 * rs11996129	22 (45%)	21	1	26 (53%)	24	2	2.63	0.404
rs1112005 * rs11996129	29 (57%)	28	1	22 (43%)	20	2	2.8	0.396

表三十九. Demographic and characteristics of TB patients included in the prospective study

Patient characteristics	rs1961456 * rs1799931			rs1799931 * rs11996129		
	Low risk	High risk	<i>p</i> value	Low risk	High risk	<i>p</i> value
Number of patients	38(70%)	16(30%)		38(75%)	13(25%)	
Age	63±22	67±21	0.793	67±20	66±22	0.928
Sex (Male/Female)	32/6	10/6	0.148	32/6	8/5	0.121
AST initial	30.0±12.9	24.6±12.9	0.380	30.4±22.7	25.4±13.5	0.460
ALT initial	22.4±14.9	28.4±24.1	0.282	23.8±16.9	27.75±23.0	0.520

表四十. Combined risk analysis according to NAT2 rs191456 and rs1799931 SNP combination, from the results of retrospective and prospective study

Study cohorts rs1961456 * rs1799931	Risk group		Hepatotoxicity		Odds ratio	p-value
		(% of population)	Abscent (%)	Present (%)		
Retrospective	Low	225 (74%)	198 (88%)	27 (12%)	4.170	0.000
	High	80 (26%)	51 (64%)	29 (36%)		
Prospective study	Low	37 (70%)	36 (97%)	1 (3%)	8.308	0.077
	High	16 (30%)	13 (81%)	3 (19%)		
Combined	Low	263 (73%)	235 (89%)	28 (11%)	4.196	0.000
	High	96 (27%)	64 (67%)	32 (33%)		

表四十一. Variation of Serum Transaminase levles in Relation to Various Haplotypes of NAT2 SNPs combinations, results of a prospective study.

SNP-SNP combination	Risk group	N	AST_i	AST_p	ALT_i	ALT_p ^a
rs1961456	High	35	24.6 ± 13	53.4 ± 40	28.4 ± 24	43.7 ± 23 *
	Low	14	30.2 ± 23	37.1 ± 22	22.6 ± 15	29 ± 18
rs2087852	High	36	24.7 ± 13	56.9 ± 42 *	26.6 ± 22	44.3 ± 24 *
	Low	12	30.3 ± 23	37 ± 22	23.9 ± 17	29.8 ± 19
rs1799931	High	30	31.2 ± 27	52.6 ± 43 *	23.9 ± 19	36.6 ± 21
	Low	19	26.5 ± 14	35.4 ± 13	24.6 ± 18	30.8 ± 21
rs11996129	High	35	25.4 ± 14	58.6 ± 44 *	27.8 ± 23	44.1 ± 25
	Low	11	30.7 ± 23	38.1 ± 21	24 ± 17	30.5 ± 19

^a i: initial, baseline value at study start
p: peak, highest value during study

子計畫編號：2-3

子計畫名稱：利用奈米科技研發新劑型抗結核
藥物

主持人：周正中

摘要

研究目的：利用二氧化矽(SiO₂)和中孔洞 SiO₂ 奈米粒子作為抗結核菌藥物 isoniazid (INH)載體，並評估奈米化後是否能夠增加巨噬細胞對 INH 藥物的吸收度(uptake rate)。

研究方法：我們利用亞胺鍵結(imine)將 INH 稼接到 SiO₂ 奈米粒子表面，並使用物理吸附原理將 INH 吸附在中孔洞 SiO₂ 奈米粒子的孔洞內。接著將這些奈米粒子標記上螢光分子，以流式細胞儀估計巨噬細胞對於它們的吸收度以及追蹤這些奈米粒子於細胞內分佈的情形。LC-MS 被用來測量細胞內及胞外 INH 的濃度，並以粒腺體活性 (CCK8) 和細胞死活螢光染劑作為細胞毒性判斷指標。

主要發現：高達 95%的巨噬細胞能有效地吞噬 SiO₂ 和中孔洞 SiO₂ 奈米粒子進入細胞質內，即使在 1 mg/ml 高濃度下對於巨噬細胞仍不具毒性。SiO₂ 和中孔洞 SiO₂ 奈米藥物的 [胞內/胞外]的 INH 吸收比值比 free INH 分別高出 133 和 14 倍。

結論及建議事項：SiO₂ 和中孔洞 SiO₂ 奈米粒子是有效而安全的藥物載體，比 free INH 更容易被吞噬進入巨噬細胞體內，大幅提高[胞內/胞外]的 INH 吸收比值。

關鍵詞：二氧化矽奈米粒子、中孔洞二氧化矽奈米粒子、isoniazid、肺結核、結核桿菌。

ABSTRACT

Objective: Silica nanoparticles (SNs) and mesoporous silica nanoparticles (MSNs) were evaluated for their potential in efficient and safe delivery of isoniazid (INH), one of anti-tuberculosis drugs, to THP-1 derived macrophages.

Methods: Imine-based linking method was developed for the conjugation of INH onto SNs. On the other hand, the loading of INH into the nanopores of MSNs can be done by physical absorption. The two silica nanocarriers were labeled with fluorescent dyes for evaluating their cell uptake rates and intracellular trafficking. Intracellular and extracellular INH concentrations were measured using LC-MS installed with C-18 column. Cell counting kit-8 (CCK8) and Live/Dead viability assays were used for assessment of cytotoxicity of the two silica nanocarriers.

Main discovery: INH release from SN and MSN nanocarriers are preferred in acidic solution. Approximately 95% cultured macrophages were able to uptake these nanoparticles into cytoplasm, but not nucleus. Compared to free INH, the SN and MSN INH-loaded nanoparticles resulted in 133- and 14-fold increase in intracellular-to-extracellular drug concentration ratios in macrophages, respectively. Experimental results of cytotoxicity and genotoxicity indicates that the two INH nanodrugs are nontoxic to macrophages.

Conclusions and suggestions: The present in vitro study indicates that silica-based nanoparticles are efficient and safe antituberculosis drug carriers.

Keywords: silica nanoparticle; mesoporous silica nanoparticle; isoniazid, tuberculosis; mycobacterium tuberculosis

壹、前言

結核病是一種由結核分枝桿菌（結核菌）感染所造成的慢性傳染病，依據世衛組織估計，大約全球三分之一的人口曾感染結核菌，並造成每年超過一百七十萬人次死亡，為目前全球感染症死亡的首要原因。儘管大規模卡介苗接種和抗結核藥物的發展，肺結核仍是一個主要的全球性公共衛生議題。

目前為止，肺結核的臨床管理和治療仍然是一個艱鉅的任務。由於只有低量的抗結核藥物可到達巨噬細胞，因此必須使用高劑量藥物，因而常常引起嚴重的副作用，導致病患遵醫囑性低而治療失敗。奈米藥物載體系統在肺部給藥提供了一個較佳的方案去改進目前抗結核藥物的療效 [1-4]。這些優勢包括：1) 改善疏水性藥物的溶解度，2) 奈米藥物可相對均勻的分佈在肺泡中，3) 奈米藥物可經由 endocytosis 進入細胞內，4) 減少投藥劑量與頻率，5) 減少副作用發生率，以及 6) 改善病人的情況 [5,6]。此外，若經由適當藥物標靶系統的設計可以針對肺泡中巨噬細胞內結核菌進行精準毒殺 [7,8]。因此藉由奈米科技的使用，有很大的潛力可以增進抗結核藥物生物利用度 (bioavailability)，進而減輕藥物劑量以及副作用，縮短現行結核病冗長的治療期，從而增加病人遵醫囑性，加強治療的效果。

目前使用奈米載體遞送抗結核藥物，除了一些可生體分解性之高分子聚合物所形成之奈米粒子如 poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) 和 alginate [1]，還包括以雙性界面活性劑所形成之微脂粒 (liposome) 和微膠粒 (micelle) [4]，以及高度樹狀分支奈米分子 dendrimers [9]，其大小與表面性質在整個藥物遞送過程中通常扮演著重要的角色。然而由於材料與製程關係，這些奈米微粒載體的粒徑都在數百奈米大小範圍之內，離所謂真正奈米級的定義 (<100 nm) 還有一段距離。一般來說，奈米微粒載體粒徑愈小，不僅愈容易穿透組織屏障屏進入血液循環，且較易被上皮細胞吸收而增進藥物的吸收 [10]。因此在這個計畫中，我們將使用粒徑更小且較為無毒的 SiO₂ 奈米微粒 (數十奈米大小) 製備奈米化藥物，並且使用低 pH 較易裂解的共價鍵結，將抗結核藥物稼接於奈米 SiO₂ 表面，防止藥物在運輸過程中容易脫落。此外，我們選定與巨噬細胞具高度結合專一性的分子 O-steroyl amylopectin (OSAP) 覆蓋在奈米藥物表面，以增進藥物的標靶特性。OSAP 是一種配體 (ligand)，會與肺巨噬細胞產生高度專一性結合 [11]。這樣的奈米載體設計，將能進一步增加藥物傳遞至肺泡巨噬細胞的效率；而且由於藥物只會在被巨噬細胞吞噬後的酸性溶菌酶內 (lysosome) 才被釋放出來，進而毒殺躲藏其內的結核桿菌，如此將大幅降低藥物副作用與增進治療的效果。

本計畫起初目的是將抗結核藥物 isoniazid (INH) 利用胜肽鍵結 (peptide bond) 的方式稼接於 SiO₂ 奈米粒子表面，並藉由巨噬細胞溶菌酶內的蛋白酶 (protease) 將其水解釋放出來。首先將 SiO₂ 表面的 OH 官能基與 3-aminopropyltriethoxysilane (APTS) 作用轉化成 NH₂ 胺基 (圖一 A)，接著使用 glutaric anhydride 將 NH₂ 胺基轉化成 COOH 羧基 (圖一 B)，再經過 EDC/NHS 催化 COOH 羧基產生中間產物 (圖一 C)，最後利用 INH 中的 NH₂ 胺基與此中間產物反應形成胜肽鍵結 (圖一 D)，由於胜肽鍵穩定不易裂解，因此在藥物運輸過程中不易脫落，進而增加藥物的治療效果。但由於 INH 中雜環的立體障礙 (圖一 D) 大幅降低胺基和羧基形成胜肽鍵結的能力，導致 INH 稼接效率不佳，因此我們嘗試在有機相中利用亞胺 (imine) 鍵結進行 INH 稼接工作。無需蛋白酶的作用，亞胺鍵可在酸性的環境中自動裂解，符合上述奈米藥物的設計理念。

為了利用亞胺鍵結進行 INH 稼接工作，首先將藥物 INH 的 NH₂ 官能基與中間稼接物 4-Carboxybenzaldehyde 的 COOH 官能基相連接形成亞胺鍵結 (圖二 A)，同時將 SiO₂ 表面的 OH 官能基與 3-aminopropyltriethoxysilane (APTS) 作用轉化成 NH₂ 官能基 (圖二 B)，接著將此具有 NH₂ 官能基之 SiO₂ 奈米粒子加入含有 INH 及稼接物之合成物，再經

由 EDC 催化,使中間稼接物 4-Carboxybenzaldehyde 的 COOH 官能基與 SiO₂ 表面之 NH₂ 官能基鍵結(圖二 C),使得 4-Carboxybenzaldehyde 兩端分別連接 INH 與 SiO₂,形成奈米化 INH 藥物。

此外,本計畫擬以共價鍵結方式將 INH 經 amide 或 imine 鍵接上 SiO₂ 奈米粒子,如此的藥物設計形式,是屬於 Pro-drug 而非「新劑型」,兩者在法規上的要求是不同的。為了符合新劑型法規的要求,我們也嘗試改用具孔洞的 SiO₂ 奈米粒子(mesoporous silica),利用物理吸附原理將 INH 吸附在 SiO₂ 奈米粒子的孔洞內。最後,我們將比較 free INH 和奈米化 INH 在巨噬細胞內的濃度,以評估奈米化 INH 是否能夠增進細胞的藥物吸收度(cellular uptake)。

貳、材料與方法

(一) SiO₂ 稼接胺基 NH₂

首先將 40 mg 的 SiO₂ 奈米粒子溶解於 15% 3-aminopropyltriethoxysilane (APTS) 的酒精中，均勻攪拌 24 hr 後在 17000 rpm 下高速離心 15 min，去除上清液後再加入絕對酒精沖洗兩次，以去離子水再沖洗一次，接著在 55°C 烘箱中烘乾 2 hr，最後形成表面帶有 NH₂ 的 SiO₂ 奈米粒子 (SiO₂-NH₂)。取出部分進行 ninhydrin 和 salicylaldehyde 胺基測量法，以確定胺基稼接上 SiO₂ 奈米粒子表面。

(二) Ninhydrin 胺基測量法

Ninhydrin 會與胺基進行反應產生藍色化合物，可利用此原理測量 SiO₂ 奈米粒子表面的胺基稼接量。首先將不同濃度的 APTS 標準溶液與等量 3 倍稀釋的 ninhydrin 溶液 (%) 混合，置於沸水中反應 20 min 後，使用冷水冷卻至室溫 5 min 使其反應終止，最後利用分光光度計測量 OD 570 nm，製作成校正曲線公式。接著將樣品以上述方法與 ninhydrin 進行反應，將測得 OD 570 值與校正曲線進行比對即可估計出胺基的稼接量。

(三) SiO₂ 稼接羧基 COOH

將 SiO₂-NH₂ 奈米粒子以 DMF 回溶，接著與等莫耳數的 glutaric anhydride 均勻攪拌反應 24 hr 後於 17000 rpm 下高速離心 15 min，將多餘的 glutaric anhydride 去除，再加入 DMF 沖洗兩次後，換成 H₂O/DMF 沖洗一次，最後再以去離子水沖洗一次，接著放置 55°C 烘箱中烘乾 2 hr，形成帶有羧基的 SiO₂ 奈米粒子 (SiO₂-COOH)。取出部分進行 ninhydrin 和 salicylaldehyde 胺基測量法，以確定 SiO₂-NH₂ 表面上的胺基是否因 COOH 官能基的產生而減少。

(四) SiO₂-COOH 稼接 INH

先秤取 1 mg 之 SiO₂-COOH 溶解於 10 mL 之去離子水中，以超音波水浴震盪 30 分鐘；之後加入含有 1 mg/mL 之 INH 的水溶液 10 mL，同時加入 10 ml 包含 75 mM EDC 以及 15 mM NHS，調整 pH 值至 8.2，並且置於 37°C 下攪拌至隔日。

(五) SiO₂-NH₂ 以亞胺鍵結稼接 INH

首先將 50 mg 的 INH 置於圓底燒瓶內，再加入當量比為 1:1 的 4-Carboxybenzaldehyde、0.1% 當量的催化劑 Mg(ClO₄)₂、50 mg 的除水劑 Sodium Sulfate 以及 10 ml 的 1,2-Dichloroethane (DCE) 溶劑，之後加熱 200°C 放至隔日，促使 INH 的 NH₂ 官能基與 4-Carboxybenzaldehyde 的 COOH 官能基產生亞胺(imine)鍵結。接著取出 INH 和 4-Carboxybenzaldehyde 之合成物，加入 50 mg 的 SiO₂-NH₂、EDC 以及 4-Dimethylaminopyridine (DMAP) 作為催化劑，在室溫下反應至隔日，以促使酯化縮合作用的進行。

(六) OSAP 包覆 SiO₂ 奈米粒子的製備

將不同重量比例的 SiO₂ 奈米粒子和 OSAP (1:1, 1:4, 1:8, 1:16) 在室溫下攪拌至隔日，測量和比較它們 Zeta 電位的變化值，以可找出兩者最佳的摻雜比例。

(七) 螢光 SiO₂ 奈米粒子以及 OSAP 包覆螢光奈米粒子的製備

取 1 mg 之 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 溶於 1 mL 的 PBS 之後，以超音波水浴震盪 30 分鐘。將每毫升 200 mg 含 FAM 螢光之 DNA 加入此 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 之 PBS 溶液並且放置於室溫下攪拌。隔日以 17000 rpm 離心 15 分鐘，去除上清液，並將沉澱之含螢光的 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 以去離子水清洗 3 次，製備成螢光 SiO_2 奈米粒子($f\text{-SiO}_2$)。接著將 $f\text{-SiO}_2$ 與 OSAP 以重量比 1:8 混合置於室溫下攪拌至隔日。之後以 17000 rpm 離心 30 分鐘，以去離子水清洗 2~3 次，製備成 OSAP 包覆螢光奈米粒子($f\text{-SiO}_2\text{-OSAP}$)。

(八) 中孔洞 SiO_2 奈米粒子(mesoporous silica)和 INH 藥物吸附

本計畫所使用之中孔洞 SiO_2 奈米粒子($m\text{-SiO}_2$)是由台大化學系牟中原教授所提供，平均粒徑大小為 100 nm，孔洞平均大小為 1 nm。將螢光分子 FITC 嵌嵌入孔洞內形成螢光中孔洞 SiO_2 奈米粒子($f\text{-m-SiO}_2$)，可用來追蹤 $m\text{-SiO}_2$ 奈米粒子於細胞內分佈的情形。為了將 INH 藥物吸附入 $m\text{-SiO}_2$ 孔洞內，取 1 mg $m\text{-SiO}_2$ 加入 10 mg/ml 的 INH 溶液中在 37°C 攪拌 3 天，形成帶有 INH 藥物的 $m\text{SiO}_2$ ($m\text{SiO}_2\text{-INH}$)，之後冷凍乾燥備用。

(九) FTIR 確認

我們利用傅立葉紅外光譜(FTIR)調查 NH_2 與 COOH 官能基是否成功稼接在 SiO_2 奈米粒子表面。因為 FTIR 所放出能量足以造成分子化學鍵之振動，不同化學鍵由於鍵能上之差異，所吸收之特定波長也有所區別，以此來判斷化合物上有哪些鍵結，像是 O-H 波數大約在 3000 cm^{-1} 、Si-O 波數大約在 1084 cm^{-1} 、N-H 波數大約在 1560 cm^{-1} 、C=O 波數大約在 1637 cm^{-1} 。

(十) 不同官能基修飾之 SiO_2 奈米粒子細胞毒性實驗

將各種不同官能基修飾之 SiO_2 奈米粒子以不同的濃度(50-1000 $\mu\text{g/ml}$)分別處理 THP-1 轉形的巨噬細胞和 BEAS-2B 支氣管表皮細胞，經過培養 24 hr 後，加入 Live/Dead viability 螢光染劑(Invitrogen)繼續培養 40 min，最後使用流式細胞儀方法測量細胞存活率；或者使用 cell counting kit-8 (CCK8)測量波長 450 nm 之吸光值來評估細胞內粒線體的活性。

(十一) 測量細胞內及胞外 INH 的濃度

以 3.3 $\mu\text{g/ml}$ free INH 和相等 INH 濃度的 $\text{SiO}_2\text{-INH}$ 以及 $m\text{SiO}_2\text{-INH}$ 的奈米藥物分別處理 THP-1 轉形的巨噬細胞，經過培養 24 hr 後，收集細胞及上清液，之後使用 LC-MS (委託中正大學貴重儀器中心進行)測量細胞及上清液之 INH 濃度。細胞內 INH 濃度的計算如下：

$$\frac{\text{INH detected in macrophages } (\mu\text{g})}{\text{Total cell volume of macrophages (ml)}}$$

where total macrophage volume = number of harvested macrophages \times $421\text{ }\mu\text{m}^3$ (average cell volume of a macrophage)

(十二) $\text{SiO}_2\text{-INH}$ 和 $m\text{-SiO}_2\text{-INH}$ 在不同 pH 值下 INH 水解釋出實驗

將 0.5mg 之 $\text{SiO}_2\text{-INH}$ 分別加入不同的 pH 值之 PBS 溶液(pH 7.4、pH 5、pH 2)中置於 37°C 環境下攪拌，測量不同時間點(0、0.5、1、2、3、4、6、8、12、24、48 hr) 波長 261 nm 的 INH 吸光值。

(十三) DNA damage assay - Comet assay 彗星試驗

將 10 μ l 含有 6000 細胞收集離心後與凝膠混合均勻，置於玻片上後於 Lysis buffer 浸泡 1hr，取出玻片。以二次水清洗 2 次後浸入含有 Alkaline Buffer 的電泳槽內泡 20 分鐘。之後跑電泳約 12 分鐘，以二次水清洗，之後泡 Tris base buffer 5 分鐘 3 次，終止反應。最後泡在有甲醇的展開槽，以保鮮膜封住，最後加 30mL PI 染劑在膠上，蓋上蓋玻片於螢光顯微鏡觀察。

參、結果

(一) SiO₂ 稼接胺基 NH₂

首先利用 salicylaldehyde 胺基測量法定性地確認 NH₂ 官能基是否稼接上 SiO₂ 奈米粒子表面。先將 1% salicylaldehyde 加入 SiO₂-NH₂ 溶液中均勻混合，當有 NH₂ 官能基存在的時候會很快與其反應產生黃色化合物，如圖三 A 所示。另外也使用 ninhydrin 胺基測量法定量地估計 SiO₂ 表面的胺基稼接量。如圖三 B 校正曲線所示，OD570 的吸光值線性地隨著 APTS 濃度增加而增加，經由此公示換算估計：每 mg 的 SiO₂ 被稼接上 3.46×10^{-6} 莫耳的 NH₂ 胺基（詳如圖三 C 所示）。

(二) SiO₂ 稼接羧基 COOH

使用 salicylaldehyde 胺基測量結果顯示，即使過了 24 hr 依然無黃色反應物的產生，表示大部份的 NH₂ 胺基已被轉化成 COOH 羧基。理論上 1 莫耳的胺基會與 1 莫耳的 glutaric anhydride 反應產生使用 1 莫耳的羧基，因此可藉由圖三 B 的線性校正公式計算出 SiO₂ 表面上胺基的減少量，進一步推算出多少每 mg 的 SiO₂-NH₂ 被稼接上 2.78×10^{-6} 莫耳的羧基，羧基的反應生成效率為 80.3% ($2.78 \times 10^{-6} / 3.46 \times 10^{-6} \times 100\%$)。

(三) FTIR 確認

將 SiO₂、SiO₂-NH₂ 和 SiO₂-COOH 奈米粒子，經過烘乾後取適量體積與 KBr 研磨壓片後，以 FTIR 紅外光譜儀測量，結果發現 3 種奈米粒子在波數大約 1084 cm⁻¹ 附近皆有很強來自 SiO₂ 奈米粒子中的 Si-O 鍵結吸收值(圖四 A)，顯示 FTIR 測量的正確性。理論上 primary 或 secondary amine 和 amide 的 IR 光譜將會出現二個 peak，一個是在 3500~3100 cm⁻¹，是因鍵結彼此間 stretch 所致；另一個則在 1640~1550 cm⁻¹，是因鍵結彼此間 bending 所致，且這個 peak 的強度可能比前者更強。在我們 SiO₂-NH₂ 的 FTIR 光譜中，在 3500~3100 cm⁻¹ 之間只見到一個淺型的大範圍 peak，但 SiO₂ 奈米粒子本身在這個區域也有類似的淺型 peak，因此無法從這裡判別 primary amine 是否稼接在 SiO₂ 奈米粒子表面。然而在 1560 cm⁻¹ 出現一個明顯的 peak，顯示 NH₂ 胺基確實成功地被稼接上 SiO₂ 奈米粒子表面。

在 SiO₂-COOH 的 FTIR 光譜中，只在 1560 cm⁻¹ 和 1637cm⁻¹ 附近發現二個明顯的鍵結吸收值，理論上，由於 glutaric anhydride 與 APTS 反應後不僅產生 COOH，同時也新生成 amide 的鍵結(如圖一所示)，所以在 1560 cm⁻¹ 附近出現一個明顯的 N-H 鍵結的 peak。此外，從 glutaric anhydride 與 APTS 反應生成物的 FTIR 光譜中可知(如圖四 B 所示)，除了上述 amide 上的 N-H 鍵結外，還有 amide 鍵上之 -C=O (約在 1669 cm⁻¹) 以及 COOH 單酸基上的 C=O (約在 1720 cm⁻¹) 鍵結的吸收。所以 SiO₂-COOH 之 FTIR 圖譜在 1637 cm⁻¹ 的 peak 應為新生成 amide 鍵上之 -C=O 鍵結的吸收，顯示 COOH 羧基成功地稼接在 SiO₂ 奈米粒子表面。由於 SiO₂ 奈米粒子之 FTIR 圖譜在 1800~1700 cm⁻¹ 間有淺型的 peak，也許因而造成 SiO₂-COOH 上 1720 cm⁻¹ 附近單酸基上的 C=O 鍵結的 peak 並不明顯。

(四) SiO₂-COOH 稼接 INH

本計畫原始目的是利用 EDC/NHS 試劑將 INH 中的胺基與 SiO₂-COOH 的羧基反應形成胜肽鍵結，然而從反應生成物的 FTIR 光譜中顯示 INH 並未稼接在 SiO₂ 奈米粒子表面。可能是因為 INH 中雜環的立體障礙(圖一 D)大幅阻礙胺基和羧基形成胜肽鍵結。而且我們發現即使 INH 成功地稼接在奈米粒子表面，所形成的胜肽鍵結正位於 INH 上

的雜環旁邊，如此會阻礙蛋白酶與胜肽鍵結反應，INH 將無法水解釋放出來。為了克服這些問題，我們採用無需蛋白酶作用即可在酸性環境中自動裂解的亞胺鍵結進行 INH 稼接工作。

(五) SiO₂-NH₂ 以亞胺鍵結稼接 INH

依照圖二反應流程所示，我們成功地以亞胺鍵結方式將 INH 稼接在 SiO₂ 奈米粒子表面。由於學校 FTIR 儀器損壞，無法由 FTIR 光譜直接證明 INH 稼接成功，但經由 HPLC 的測量則顯示 1 mg SiO₂ 大約稼接上 0.2 mg INH。奈米藥物在不同 pH 的 PBS 溶液實驗結果顯示(圖五左)，亞胺鍵在酸性環境中(pH = 2)瞬間斷裂，大部分稼接的 INH 被釋出于 PBS 溶液中；在微酸性環境中(pH = 5)亞胺鍵逐步地斷裂緩慢釋出 INH；在中性環境中(pH = 7.4)理論上亞胺鍵不會斷裂，但卻在起始時間測量到少數 INH 的釋放，可能是因稼接過程中吸附在奈米粒子表面，而後因超音波震盪懸浮處理過程中而釋放出來。

(六) 中孔洞 SiO₂ 奈米粒子(mSiO₂) INH 藥物吸附與釋放

如圖五右所示，雖然 1 mg mSiO₂ 大約吸附了 0.3 mg INH (data not shown)，但由於奈米粒子表面缺乏覆蓋層，所以經過超音波震盪懸浮到各種 pH 的 PBS buffer 後，許多 INH 被釋放出來。即使如此，在酸性和微酸性環境中(pH = 2 和 5)，大約 75% INH 吸附量被釋放出來；在中性環境中(pH = 7)則只有大約 50% INH 吸附量被釋放出來；顯示酸性環境能夠促進 INH 從奈米粒子的孔洞中釋放出來。

(七) OSAP 包覆 SiO₂ 奈米粒子(OSAP-SiO₂)的製備

如圖六所示，當 OSAP 包覆 SiO₂ 奈米粒子會增加粒子表面 zeta 的電位，且 OSAP 的重量比例越大，zeta 的電位增加越多，直到 OSAP/SiO₂ = 8:1 時達到飽和，所以這個比例就是兩者最佳的摻雜比例。

(八) 各種 SiO₂ 奈米粒子的細胞吸收度

等量的螢光 SiO₂ (*f*-SiO₂)、OSAP 包覆螢光 SiO₂ (*f*-OSAP-SiO₂)和螢光 mSiO₂ 奈米粒子(*f*-mSiO₂)分別加入巨噬細胞培養 5 hr 後，以流式細胞儀估計巨噬細胞對於一般 SiO₂ 和中孔洞 mSiO₂ 奈米粒子的吸收度以及追蹤這些奈米粒子於細胞內分佈的情形。如圖七 A 所示，SiO₂ 奈米粒子在包覆 OSAP 後對於巨噬細胞吸收度反而從 95%降低至 75%，這個結果與先前預期的相反；至於中孔洞 mSiO₂ 奈米粒子則與一般 SiO₂ 奈米粒子同樣具有大約 95%的細胞吸收度。至於這些奈米粒子的細胞吞噬量則可由細胞的平均螢光強度估計，如圖七 A 所示，相對於未包覆 SiO₂ 奈米粒子，包覆 OSAP 的奈米粒子不僅巨噬細胞的吸收度差，而且平均細胞吞噬量也大幅下降 2 倍。由於 *f*-mSiO₂ 的 FITC 螢光分子是嵌在 SiO₂ 孔洞之內，受到奈米粒子屏障效應的影響，平均螢光強度較弱，所以無法與 *f*-SiO₂ 直接進行比較。進入細胞後，SiO₂ 和 mSiO₂ 奈米粒子只停留在細胞質中不會進入細胞核(圖七 B)。

(九) 各種 SiO₂ 奈米粒子對細胞毒性和 DNA 損壞的影響

我們將不同濃度(0, 50, 100 μg/ml)的 SiO₂、SiO₂-NH₂ SiO₂-COOH 奈米粒子分別處理

THP-1 巨噬細胞和 BEAS-2B 支氣管表皮細胞後，以粒腺體活性(CCK8)與螢光染劑二種細胞毒性指標判斷，發現這些奈米粒子即使在高濃度下對於細胞的毒性效果並不顯著(圖八 A)。進一步的細胞彗星實驗(comet assay)結果顯示，SiO₂-COOH 奈米粒子並不會造成細胞內 DNA 的損壞(圖八 B)，顯示 SiO₂ 這個材質似乎對於細胞是較無毒性的。

(十) mSiO₂ 和 SiO₂-INH 奈米藥物的細胞毒性測試

將 mSiO₂ 和 SiO₂ 以亞胺鍵結稼接 INH 的奈米藥物 SiO₂-INH 以不同濃度(0, 50, 100, 500 and 1000 μg/ml)處理 THP-1 巨噬細胞，以粒腺體活性和細胞死活螢光染劑為判斷指標，發現 SiO₂-INH 即使在高濃度下對於細胞仍不具毒性 (圖九)。

(十一) SiO₂-INH 和 mSiO₂-INH 奈米藥物於細胞內外 INH 的濃度的比較

將內含大約等量 INH 的 SiO₂-INH 和 mSiO₂-INH 奈米藥物與 free INH 分別處理 THP-1 巨噬細胞後，發現這些藥物皆能導致細胞有效的吸收(表一)，然而二種 INH 奈米藥物的[胞內/胞外]的吸收比值皆遠高於 free INH，特別是 SiO₂-INH 奈米藥物，它的[胞內/胞外]的 INH 吸收比值比 free INH 高出 133 倍，顯示 INH 奈米化的確能大幅增加藥物的細胞吸收度。

肆、討論

目前的實驗結果顯示，OSAP 的包覆未如預期地增加 SiO₂ 奈米粒子對巨噬細胞的吸收度，一個可能的解釋是因為 OSAP 的包覆增加了 SiO₂ 奈米粒子的表面電位。如圖六所示，當 OSAP 和 SiO₂ 的混合比例從 1:1 上升到 8:1 時，奈米粒子的表面電位則從 -25 mv 上升至 -13 mv。一般來說，帶負電荷的奈米粒子具有較佳的細胞吸收度[12]，OSAP 的包覆降低 SiO₂ 奈米粒子表面的負電位，導致較差的細胞吸收度，因此在後來的奈米藥物實驗中不再使用。另一方面，高達 95% 的巨噬細胞能有效地吞嚥 SiO₂ 和中孔洞 SiO₂ 奈米粒子進入胞內，而且對於巨噬細胞和 BEAS-2B 支氣管表皮細胞證明是無毒的，顯示這二種奈米粒子是有效而安全的奈米藥物載體。

在比較 INH 奈米藥物於細胞內外的濃度實驗中，二種 SiO₂ 奈米粒子皆比 free INH 具有更佳的[胞內/胞外]的 INH 吸收比值，尤其是 SiO₂ 奈米藥物展現出超高的[胞內/胞外]的吸收比值，足足比 free INH 高出 133 倍之多。主要原因是因亞胺鍵結在細胞培養液的中性環境中不易斷裂，只有當進入巨噬細胞內的酸性環境中才大量開始裂解。另外，由於中孔洞奈米藥物是利用物理吸附原理將 INH 吸附在奈米粒子的孔洞內，但目前粒子表面缺乏覆蓋層，所以經過超音波震盪懸浮後，許多 INH 被釋放至培養液中，導致培養液中的 INH 濃度上升，所以[胞內/胞外]的吸收比值較 SiO₂ 奈米藥物低了許多，但仍比 free INH 高出 14 倍。有鑑於中孔洞 SiO₂ 奈米藥物是利用物理吸附原理，並未改變原始藥物的化學性質，也無有機溶劑殘留或中間產物純化的問題，製備程序上較為簡單且符合新劑型法規的要求，若將來使用生物可分解的薄膜分子(如 bioglass)，將 SiO₂ 奈米孔洞表面包覆起來，將可控制 INH 的釋放達數星期之久，成為長效型的抗結核菌的奈米化藥物。

伍、結論與建議

綜合而言，SiO₂ 和中孔洞 SiO₂ 奈米粒子是有效而安全的藥物載體，比 free INH 更容易被吞噬進入巨噬細胞體內，因而增加 INH 藥物的細胞吸收度，大幅提高[胞內/胞外]的 INH 吸收比值。本計畫未來的研究方向將比較探討 SiO₂ 奈米化 INH 藥物對於感染巨噬細胞之結核菌的毒殺能力，並進行老鼠動物實驗，將 free INH 和奈米藥物藉由支氣管滴注方式(bronchial instillation)送入肺部，調查奈米化 INH 藥物是否能增加肺泡巨噬細胞的藥物吸收度和提高[胞內/胞外]的 INH 吸收比值。未來若將 INH 奈米化藥物以口鼻吸入方式給藥，直接增加藥物傳遞至肺泡巨噬細胞的效率，將能夠減少投藥劑量與頻率，從而減少副作用發生率，增進治療的效果。

陸、計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

(一) 重要研究成果

1. 成功地以亞胺鍵結將 INH 稼接在 SiO_2 奈米粒子表面，並證明此奈米藥物能有效而安全地進入巨噬細胞體內，大幅增加[胞內/胞外]的 INH 吸收比值。
2. 利用物理吸附原理，成功地將 INH 吸附在中孔洞 SiO_2 奈米粒子的孔洞內，並證明此奈米藥物能有效而安全地進入巨噬細胞體內，有效提高[胞內/胞外]的 INH 吸收比值。

(二) 對國家政策應用之具體建議

無。

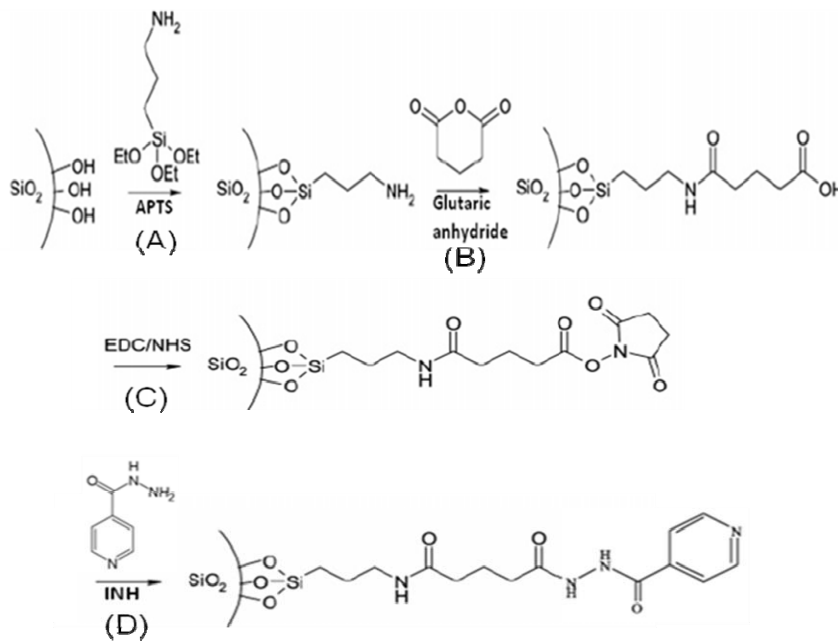
柴、参考文献

1. Pandey R, Khuller GK. Nanotechnology based drug delivery system(s) for the management of tuberculosis. *Indian J Experimental Biology*. 2006; 44: 357-366.
2. Mathuria JP. Nanoparticles in tuberculosis diagnosis, treatment and prevention: A hope for future. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2009; 4: 309-312.
3. Gelperina S, Kisich K, Isman MD, Heifets L. The potential advantages of nanoparticle drug delivery systems in chemotherapy of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 172: 1487-1490.
4. Sosnik A, Carcaboso AM, Romina J, Glisoni RJ, Moretton MA, Chiappetta DA. New old challenges in tuberculosis: Potentially effective nanotechnologies in drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009; 62: 547-559.
5. Sung JC, Pulliam BL, Edwards DA. Nanoparticles for drug delivery to the lungs. *Trends Biotechnol*. 2007;25:563 - 570.
6. Bailey MM, Berkland CJ. Nanoparticle formulations in pulmonary drug delivery. *Med Res Rev*. 2009;29:196 - 212.
7. Vyas SP, Kannan ME, Jain S, Mishra V, Singh P. Design of liposomal aerosols for improved delivery of rifampicin to alveolar macrophages. *Int J Pharm*. 2004; 269: 37-49.
8. Zaru M, Sinico C, De Logu A, Caddeo C, Lai F, Manca ML, Fadda AM. Rifampicin-loaded liposomes for the passive targeting to alveolar macrophages: in vitro and in vivo evaluation. *J Liposome Res*. 2009;19: 68-76.
9. Kumar PV, Asthana A, Dutta T, N, Jain NK, Intracellular macrophage uptake of rifampicin loaded mannosylated dendrimers. *J Drug Target*. 2006; 14: 546-556.
10. Florence AT, Hussain N. Transcytosis of nanoparticles and dendrimer delivery system: Evolving vistas. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001; 50: S69.
11. Deol P, Khullar G.K. Lung specific stealth liposomes: stability, biodistribution and toxicity of liposomal antitubercular drugs in mice. *Biochim Biophys Acta*. 1997; 1334: 161-172.
12. Patil S, Sandberg A, Heckert E, Self W, Seal S. Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential. *Biomaterials*. 2007; 28: 4600-4607.

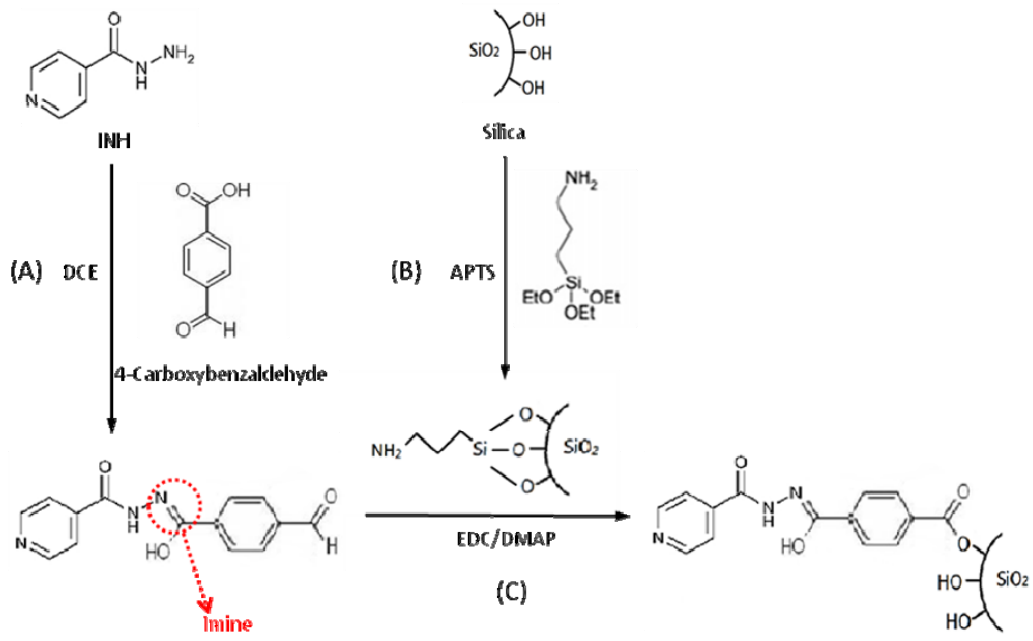
捌、圖表

表一、Free INH 與 INH 奈米化藥物於巨噬細胞內外 INH 的濃度的比較。

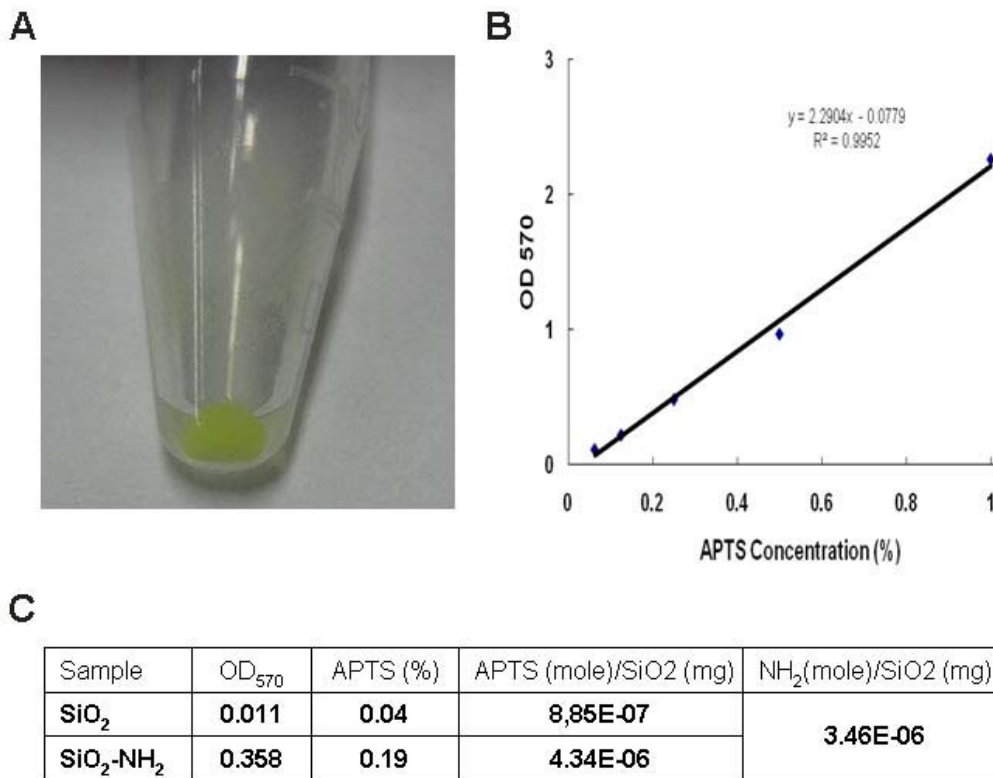
Drug	[INH] _{medium} ($\mu\text{g/ml}$)	[INH] _{cell} ($\mu\text{g/ml}$)	$\frac{[\text{INH}]_{\text{cell}}}{[\text{INH}]_{\text{medium}}}$	Ratio to Free INH
Free INH	3.27 ± 0.10	45.68 ± 11.40	13.97	1
SiO ₂ -INH	0.45 ± 0.05	835.56 ± 404.68	1858.97	133
mSiO ₂ -INH	1.54 ± 0.38	307.37 ± 68.02	199.00	14



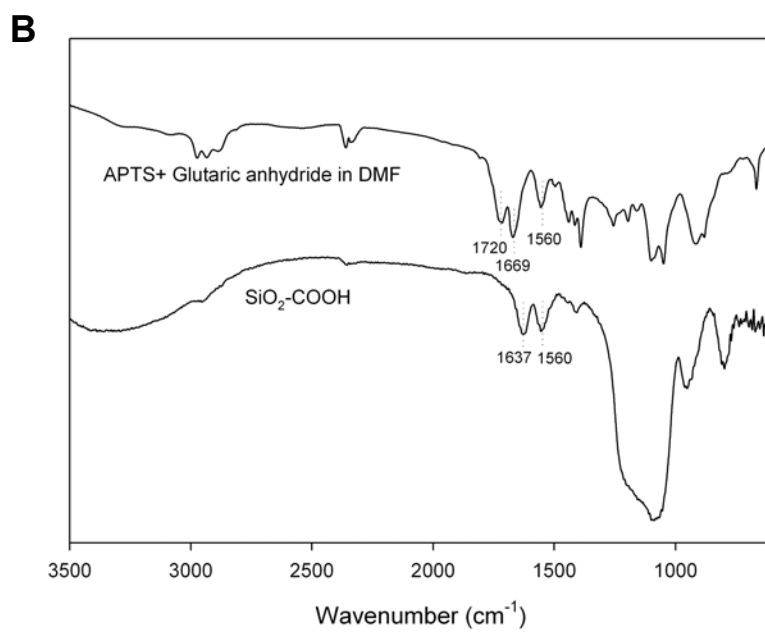
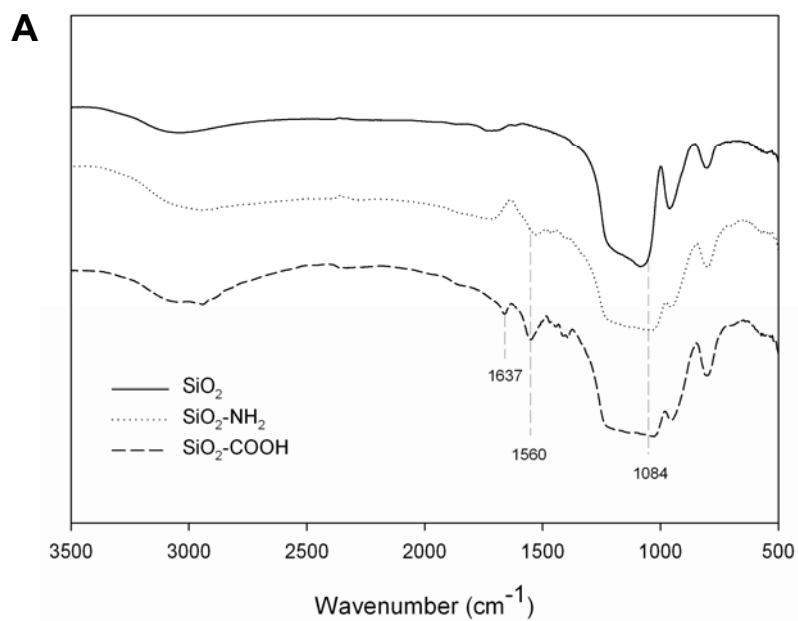
圖一、SiO₂ 與抗結核藥物 INH 鍵結流程示意圖。



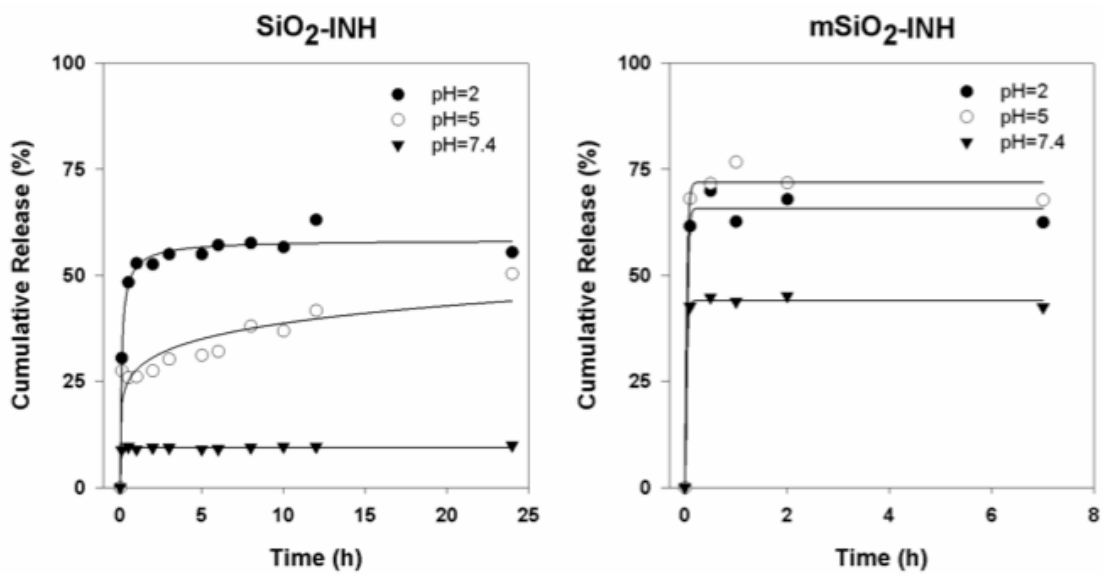
圖二、SiO₂ 與抗結核藥物 INH 藉由亞胺鍵結稼接流程示意圖



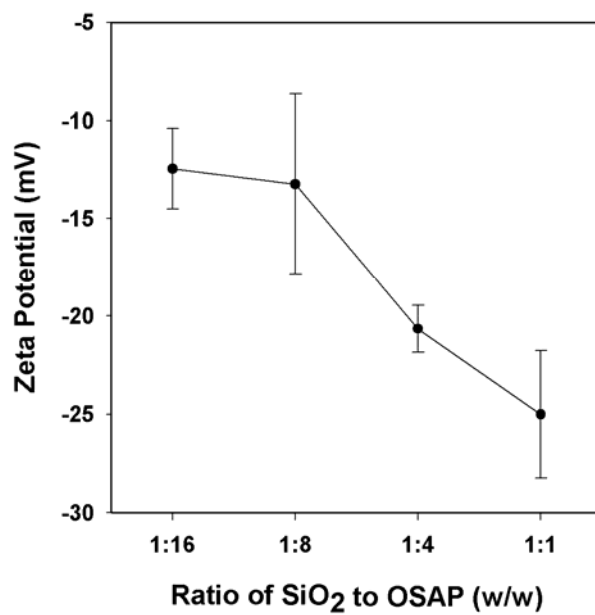
圖三、SiO₂ 奈米粒子稼接胺基測量法。(A) salicylaldehyde 與 SiO₂-NH₂ 反應產生黃色化合物證明胺基確實稼接上 SiO₂ 奈米粒子表面。(B) Ninhydrin 胺基定量測量法；OD570 吸光值與 APTS 濃度(含胺基 NH₂)的線性校正公式。(C) SiO₂ 表面胺基稼接量的估計試算表。



圖四、 SiO_2 表面修飾官能基的 FTIR 光譜圖。

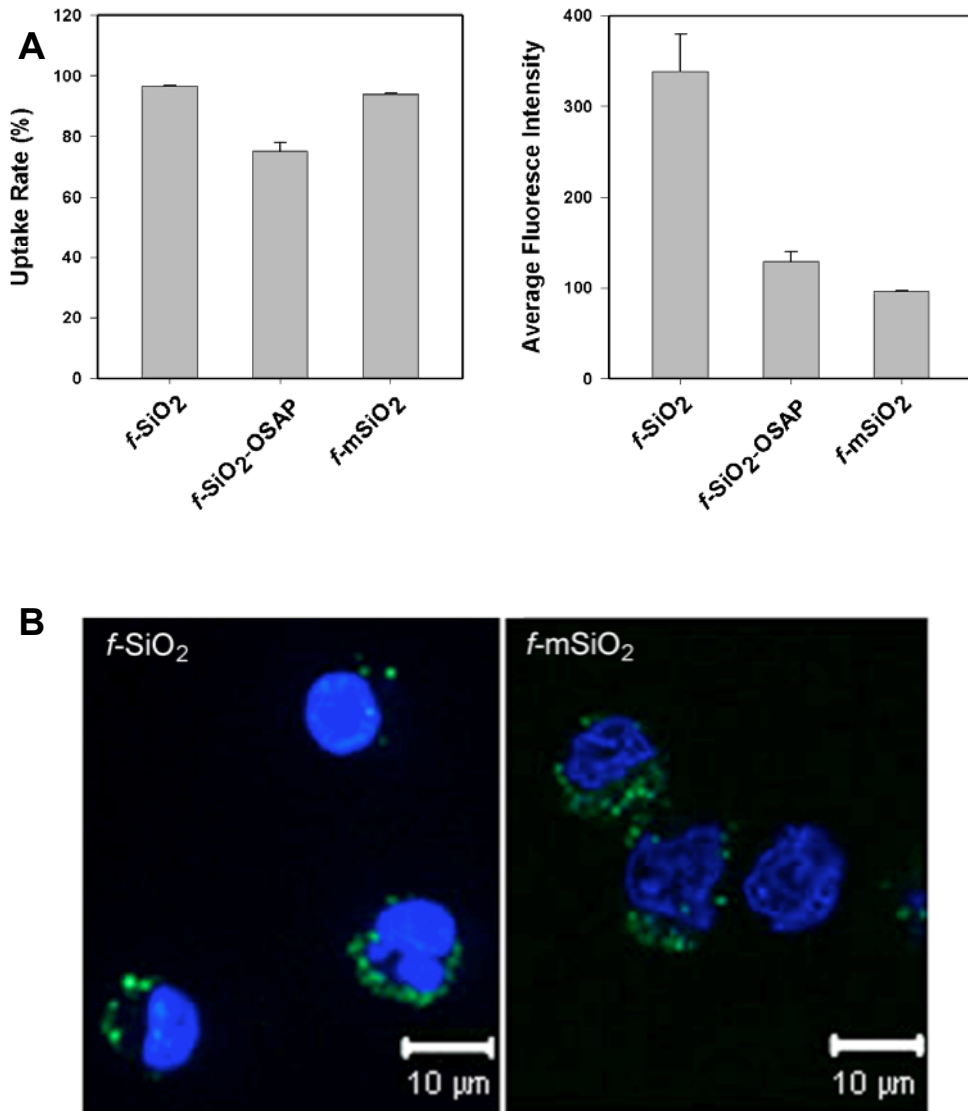


圖五、SiO₂-INH 和 mSiO₂-INH 奈米藥物，在不同 pH 值的 PBS 緩沖溶液中 INH 水解釋

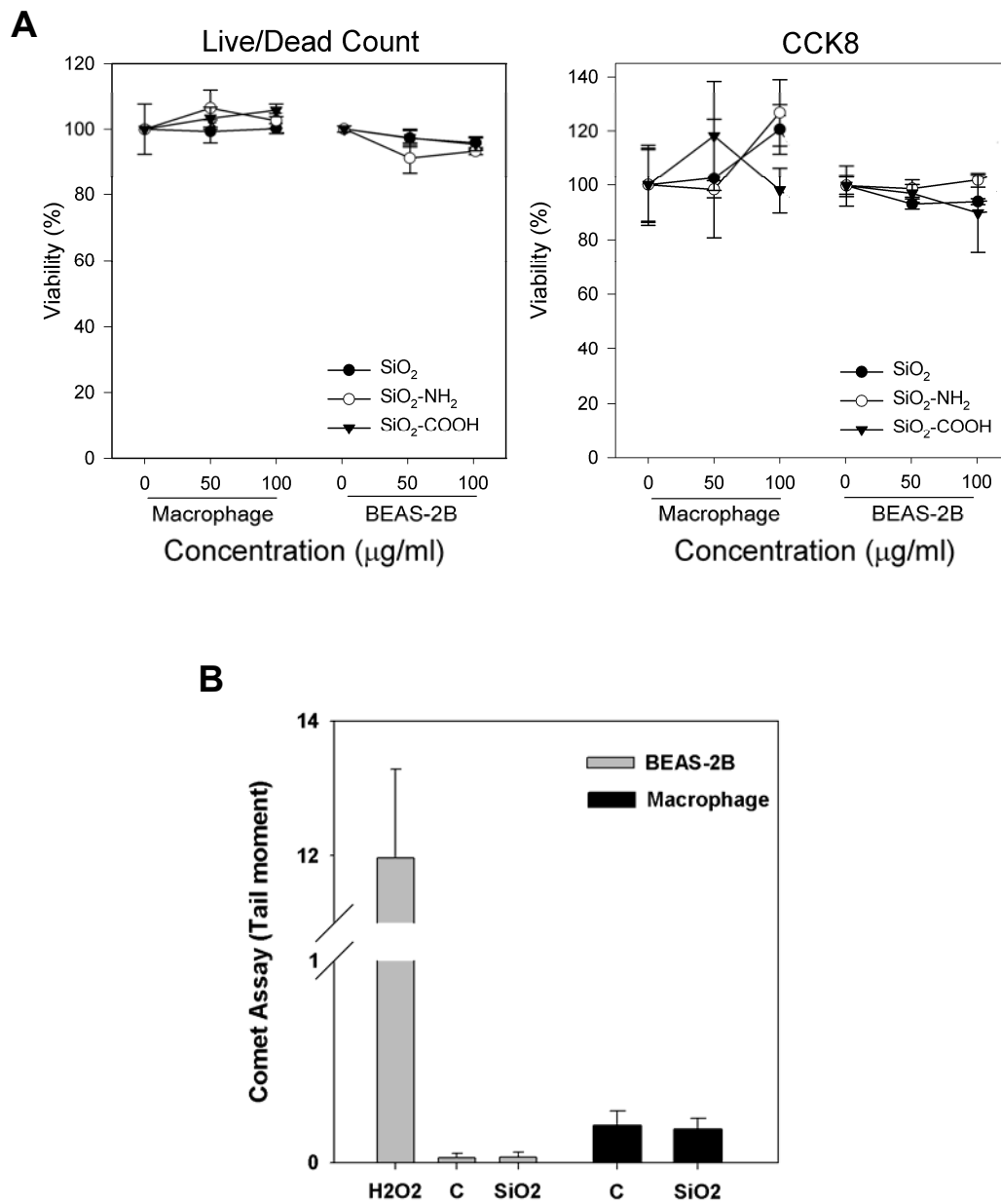


放速率的比較。

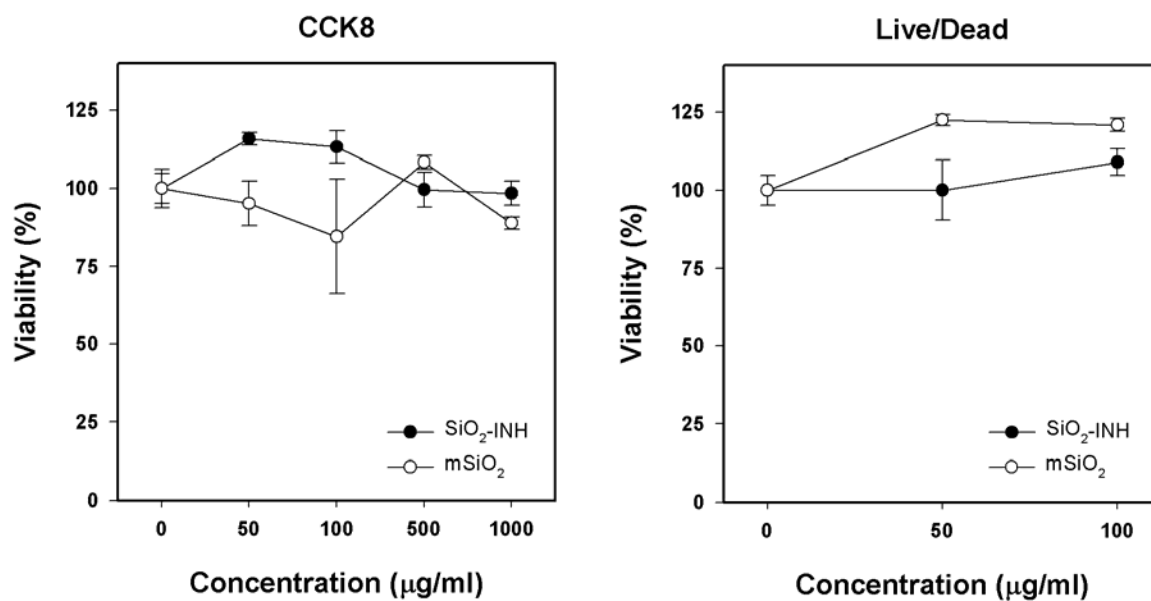
圖六、不同重量比例的 OSAP 如何影響 SiO₂ 奈米粒子表面 zeta 電位的效應探討。



圖七、各種 SiO_2 奈米載體的巨噬細胞吸收度(cellular uptake)與胞內分佈的情形追蹤。(A) 以流式細胞儀估計巨噬細胞對於螢光 SiO_2 ($f\text{-SiO}_2$)、OSAP 包覆螢光 SiO_2 ($f\text{-OSAP-SiO}_2$) 和螢光 mSiO_2 奈米粒子($f\text{-mSiO}_2$)的吸收度(左)以及利用細胞的平均螢光強度估計這些奈米粒子的細胞吞噬量(右)。(B)使用共軛對焦(confocal)顯微鏡追蹤這些奈米粒子在細胞內分佈的狀況。



圖八、SiO₂ 奈米粒子細胞毒性和基因毒性測試。(A)使用二種不同細胞毒性試驗方法估計 SiO₂、SiO₂-NH₂ 與 SiO₂-COOH 奈米粒子對巨噬細胞和 BEAS-2B 表皮細胞毒性作用測試結果, (B) SiO₂ 奈米粒子基因毒性測試。



圖九、SiO₂-INH 奈米藥物和中孔洞 mSiO₂ 奈米載體對巨噬細胞和 BEAS-2B 表皮細胞毒性作用測試結果。

子計畫編號：2-4
子計畫名稱：建立增強 *SP110* 基因所調控的免疫力之藥物篩選平台
主持人：顏伯勳

摘要

結核分枝桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 為一種會造成人類結核病的病原菌，全世界每年約有兩百萬人會因結核病而死亡。近年來更因多重抗藥性結核菌 (multidrug resistant tuberculosis; MDRTB) 及廣泛抗藥性結核菌 (extensively drug resistant tuberculosis; XDRTB) 不斷地在全球擴散，使得結核病的防治工作遭遇更大的挑戰，因而新抗結核藥物的研發便成為刻不容緩的工作。由小鼠模式我們已於先前的工作鑑定出一個可以控制宿主對結核分枝桿菌感染的易感受性 (susceptibility) 之基因 *Ipr1*。表現 *Ipr1* 基因不但能抑制結核分枝桿菌在巨噬細胞內的生長，並能將被感染的巨噬細胞從可能形成細胞壞死 (necrosis) 轉變為細胞凋亡 (apoptosis) 的死亡形式。而巨噬細胞以此細胞凋亡之死亡形式將有助於宿主提升免疫力來抵抗結核分枝桿菌的感染。人類 *SP110* 基因為小鼠 *Ipr1* 基因的同源體 (orthologue)，而本實驗室的研究結果亦顯示在巨噬細胞中表現 *SP110* 基因會抑制細胞死亡。本研究於是利用此表現 *SP110* 基因的細胞模式，以台大醫學院基因體醫學研究中心之細胞影像分析系統 ImageXpress Micro 為平台來高通量篩選增強 *SP110* 基因所調控的免疫力之化合物。我們目前已經建立一個約六百種化合物的化合物庫 (compound library)，經過條件優化後，以這些化合物分別處理本實驗室所製備之穩定表現 GFP-SP110 融合蛋白的 THP-1 細胞株，再高通量篩選增強 GFP 綠色螢光訊號的化合物。所篩選出的化合物將再用來測試活體外對細胞死亡的影響及觀察表現 GFP-SP110 融合蛋白的細胞在這些化合物的作用下是否能加強對結核分枝桿菌生長的抑制，以決定所篩選出的化合物是否能增強 *SP110* 基因所調控之免疫力。此篩選平台的建立可望對結核病的藥物研發提供一個新的策略與方向。調控之免疫力。此篩選平台的建立可望對結核病的藥物研發提供一個新的策略與方向。

中文關鍵詞(至少三個)：結核病、高通量篩選、細胞凋亡

Abstract

Mycobacterium tuberculosis (*Mtb*) is a pathogen causing human tuberculosis (TB), which is responsible for approximately 2 million people deaths annually in the world. Recently, increases in drug-resistant TB, including multidrug resistant tuberculosis (MDRTB) and extensively drug resistant tuberculosis (XDRTB) recorded globally, have been making the prevention and control of tuberculosis a bigger challenge. Therefore, it is in urgent need of developing new anti-tuberculosis drugs. In mouse models, we previously identified the *Ipr1* gene, which limits the *Mtb* growth in mouse macrophages and facilitated the *Mtb*-infected macrophages to apoptotic cell death, a cell death mode better for the hosts to enhance immunity against *Mtb* infection. SP110 protein is the human homologue of mouse IPR1 protein, and our studies have shown that the expression of SP110 inhibited the cell death of macrophages. In the studies we took the advantage of ImageXpress Micro, a system for cellular analysis of images for high content assays, in the Center of Genomic Medicine at National Taiwan University to screen compounds that could increase the SP110-mediated immunity. So far we have selected approximately 600 compounds to establish a compound library, and, after optimizing the screening condition, each compound has been used to treat THP-1 stable cell clone that expresses GFP-SP110 protein. The identified compounds that enhanced the green fluorescence signal of THP-1 stable cells by the high content screening system will be further tested if the effect of SP110 on the regulation of cell death will be increased upon treatment with compounds. We will also examine if the effect of SP110 on the inhibition of *Mtb* growth in macrophages in vitro will be enhanced by the treatment. Both assays will determine if the identified compounds could strengthen the immunity mediated by SP110 against *Mtb* infection. The cell-based screening platform established in the studies may provide a new strategy and direction for the development of anti-tuberculosis drugs.

Keyword: tuberculosis; high content screening; apoptosis

壹、前言

結核分枝桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 是一種會感染人類而導致結核病 (tuberculosis) 的細胞內病原菌。根據世界衛生組織的資料顯示，2009 年全球約有九百四十萬個新病例，而約有一百七十萬人因結核病而死亡 (WHO Fact Sheet N°104 [http://www.who.int])。由於結核病會和愛滋病毒 (HIV) 共同感染，使得死亡率進一步的提高，也使得治療更加的困難¹。近來更由於多重抗藥性結核菌株 (Multiple drug resistant tuberculosis; MDRTB) 及廣泛抗藥性結核菌株 (Extensively drug resistant tuberculosis; XDRTB) 的產生及全球性的散佈，使得結核病的防治工作變得更加棘手而成為全球公共衛生的一大嚴肅課題^{2,3}。

結核病雖然已是當今世界上極為嚴重的公共衛生問題，但是卻已經有超過四分之三世紀的時間沒有新的疫苗、以及將近半個世紀的時間沒有新的抗結核病藥物問世⁴。新的藥物開發需要投入大量的金錢和冗長的時間⁵，同時亦需要有正確的藥物標的選擇及藥物篩選策略才能成功⁶。目前，對於篩選抗結核病藥物的策略主要有下列三種檢測方式。它們分別是：1) 篩選對整個結核分枝桿菌生長的抑制物；2) 於活體外篩選作用在個別酵素或代謝作用路徑的化合物；3) 篩選結合上述兩類的標的⁷。這些檢測的策略都有其優缺點，但大致上這些策略均是以病原菌，亦即結核分枝桿菌本身作為藥物作用的標的，來尋找藥物能直接的殺死病原菌⁸。然而，在實際上，這樣一個方向卻已經面臨了極大的困難和瓶頸⁹，而需要嚐試以不同的方向以求突破。所以，以宿主或宿主與病原菌交互作用時的分子作用機制作為藥物標的將是一個可以考量的新方向¹⁰。這個方向的主要策略，是以調控宿主對病原菌的免疫力或阻礙病原菌對宿主防禦機制的干擾與破壞，來間接地抑制病原菌的生長與消滅它們。而這樣的一類藥物，由於並非直接作用在病原菌上，亦可能因此而降低病原菌產生抗藥性的機率。

據估計全世界有三分之一的人口已受結核分枝桿菌的感染，但是大部份的被感染者不但沒有症狀也無感染性，其中只有不到十分之一的受感染者會在他們一生中的某個時期發病¹¹。決定個人是否被結核分枝桿菌感染的風險因子及感染後是否會發展成為結核病的因素很多，但從遺傳學及流行病學在人類及實驗動物模式上的研究顯示受感染宿主的基因體，扮演一個很重要的角色¹²⁻²⁰。目前已找出遺傳上影響結核病易感受性 (susceptibility) 的遺傳因子，而這些因子的變異型 (variants) 具有調控宿主易感受性的能力²¹。藉由小鼠模式，我們在先前的工作已定位出染色體上一個能影響宿主對結核分枝桿菌感染產生易感受性的區域，*sst1* (supersusceptibility to tuberculosis 1，對結核病具超級易感受性之區域 1)²²。該區域位於小鼠第一對染色體 49-54 cM 之間，為主要調控宿主對結核分枝桿菌感染後產生易感受性或易抵抗性 (resistance) 的基因座 (locus)，且此基因座會專一性地影響肺部結核病的發展。以小鼠模式，我們並進一步找出位在此 *sst1* 基因座內調控宿主對結核分枝桿菌感染後產生易感受性或易抵抗性的候選基因，*Ipr1* (Intracellular Pathogen Resistance 1，對細胞內病原體具抵抗性的基因 1)²³。*Ipr1* 基因在 *sst1* 易感受型小鼠內沒有表現，但在被結核分枝桿菌感染之 *sst1* 易抵抗型小鼠的肺及巨噬細胞內則有高度的表現。表現此基因則能抑制結核分枝桿菌及李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) 在巨噬細胞 (macrophages) 內的增殖，並將被感染的巨噬細胞從可能形成細胞壞死 (necrosis) 轉變為細胞凋亡 (apoptosis) 的死亡型式。因此，*Ipr1* 基因可能是藉由促使被結核分枝桿菌感染的巨噬細胞形成細胞凋亡來抑制

結核分枝桿菌在巨噬細胞內的生長，進而防止肺結核的產生。

SP110 是人類和 *Ipr1* 基因相對應的基因，該基因是位在人類第二對染色體 2q37 的位置²⁴。此兩基因的表現都受到干擾素 (Interferons) 的調控，顯示它們在宿主免疫力的調控上具有特定的功能。*Ipr1* 和 *SP110* 兩個基因所產生的蛋白質 IPR1 和 SP110b (一個 SP110 蛋白質的同位體) 具有 41% 的相同度 (41% identity)²³，也都是細胞核蛋白 (nuclear protein)，屬於細胞核體 (nuclear body) 的成份，且會和其他的蛋白質形成複合體來參與基因轉錄的調控。此外，這些蛋白質具細胞核定位訊號 (nuclear localization signal)，可將這些蛋白質帶至細胞核，而在細胞核內聚集形成斑點狀 (speckled) 的巨分子結構 (macromolecule)²⁴。這些蛋白質還具有細胞核接受器接合區域 (nuclear receptor binding motif) LXXLL。此 LXXLL 區域常存在於核染色質蛋白、轉錄共活化因子 (transcriptional coactivator) 或轉錄共抑制因子 (transcriptional corepressor) 中²⁵⁻²⁷。由於 IPR1/SP110 亦具有此區域，因此推測 IPR1/SP110 的功能應該是作為轉錄共調控因子 (transcriptional coregulator)，並和特定的轉錄因子、轉錄共活化因子、轉錄共抑制因子、或核染色質成份作用來調控核染色質的改組 (chromatin remodeling)、基因的轉錄、及去氧核糖核酸的複製，進而在細胞活化、細胞分裂、以及細胞凋亡的調控中扮演重要的角色。

細胞凋亡是一個受高度調控的細胞解構 (cellular deconstruction) 機制，多細胞生物以此機制進行正常的發育過程以及防止不正常的細胞生長。細胞凋亡同時也在生物的免疫系統中扮演重要的角色。對結核分枝桿菌所感染的巨噬細胞而言，細胞凋亡除了能直接殺死結核分枝桿菌、幫助巨噬細胞將結核分枝桿菌限制在細胞凋亡小體以避免感染更多的宿主細胞外，還能幫助宿主交插激活 (crossprime) 殺手 T 細胞 (CD8 T cells) 來產生後天免疫反應 (adaptive immunity)，以此來增強宿主的免疫力^{28,29}。所以，細胞凋亡便提供巨噬細胞一個對抗結核分枝桿菌感染的作用機制^{30,31}。

綜合上述，結核病乃當今世上極為嚴重的公共衛生問題。即使使用抗生素及疫苗對結核病進行防治，肺結核仍然是全世界傳染病致死率最高的疾病。開發新的抗結核病新藥便成為一個刻不容緩的工作。由於抗結核病新藥的開發正面臨瓶頸，我們若能找出新的藥物標的或發展出新的篩選策略，應能為抗結核病新藥的開發提供一個新的方向。*Ipr1* 基因為我們從小鼠模式找到的一個能調控宿主在感染結核分枝桿菌後產生易感受性或易抵抗性的基因。此 *Ipr1* 基因能參與宿主對免疫功能的調控，讓受感染的巨噬細胞走向對宿主的免疫反應有利的細胞凋亡之死亡模式。在本計劃中，我們便以此 *Ipr1* 蛋白之人類同源體 SP110 蛋白作為候選蛋白質，建立一個以細胞模式進行高通量篩選 (high content screening) 化合物庫的平台，來嚐試找出增強 *SP110* 基因所調控的免疫力之藥物。

貳、材料與方法

1. 建立化合物庫:

此化合物庫 (compound library) 主要為從台大醫學院毒理所陳惠文副教授及醫技所俞松良副教授的實驗室所提供約六百種的化合物。我們以此所建立的化合物庫用細胞影像分析系統進行高通量篩選。此工作項目包含下列步驟:

a. 化合物資料的整理

由於這些化合物有不同的來源，我們將整理這些化合物的資料，並對這些化合物作初步的分類。

b. 化合物的回溶及分裝

我們接著將把這些化合物依建議的濃度進行回溶及分裝，以利高通量的篩選。此一化合物庫的建立亦可提供作為其他化合物篩選的研究計畫。

2. 建立高通量細胞影像分析系統的篩選平台:

此平台為利用台大醫學院基因體醫學研究中心之細胞影像分析系統 ImageXpress Micro 進行細胞模式的生物活性分析 (cell-based bioactivity assay)，以高通量篩選出影響這些細胞生物活性的化合物。而所用的細胞則為本實驗室已製備之能受多西環素 (doxycycline; dox) 誘導表現出 GFP-SP110b 融合蛋白的人類單核球 THP-1 穩定細胞株。這個以慢病毒表現系統 (lenti viral expression system) 誘導表現 GFP-SP110b 融合蛋白的 THP-1 穩定細胞株之質體構築與細胞株之製備如圖一及圖二所示³²。當細胞株以多西環素處理時，綠色螢光的 GFP-SP110b 融合蛋白會被誘導表現出來 (圖三); 有趣的是，如此誘導表現的 GFP-SP110b 融合蛋白在細胞接受干擾素 gamma (interferon gamma; IFN γ) 激化時有更多的表現量，亦即呈現出更強的綠色螢光訊號 (圖四)。由於 GFP-SP110b 的轉錄不受干擾素 gamma 的調控 (GFP-SP110b 的啟動子為 TRE)，所以，在此所觀察到更多的 GFP-SP110b 融合蛋白之表現顯然是受到一未知的後轉譯 (post-translation) 機制所調控。當我們以較長時間的干擾素 gamma 激化細胞而引起細胞壞死 (necrosis) 時，透過 propidium iodide 染色及流式細胞儀 (FACS) 的分析，SP110b 蛋白的表現能抑制細胞壞死的現象 (圖五)。由於當細胞受感染時，細胞壞死的減少及細胞凋亡的增加將有助於宿主對抗病原菌^{23,29}。所以，本計畫的實驗設計，便是透過細胞影像分析系統來高通量篩選出能增強綠色螢光訊號 (代表增強 SP110 蛋白穩定性或延長該蛋白半衰期等)、及減弱由 propidium iodide 染色所產生的紅色螢光訊號 (代表細胞壞死受抑制) 的化合物，進而開發增強宿主免疫力的新藥物。此工作項目包含下列步驟:

a. 高通量細胞生物活性檢測條件的優化

為了進行高通量化合物的篩選，我們將測試不同時間、不同濃度干擾素 gamma 激化的細胞，以決定出進行最佳細胞生物活性檢測 (此為同時觀察細胞的綠色螢光及紅色螢光) 的條件。

b. 化合物庫的高通量篩選

由前面步驟所決定的條件，我們將試著去篩選出能增強綠色螢光訊號及減弱紅色螢光訊號的化合物。所篩選出的化合物將接著配製成不同濃度，作進一步的檢測。

c. 細胞凋亡檢測

前一步驟所篩選出的化合物將接著分析它們對細胞所產生細胞凋亡的增強效果。此步驟將以對細胞凋亡具專一性的冷光試劑 Caspase-Glo 3/7 (Promega) 及冷光偵測系統進行分析。或以 Annexin V 的染色 (BD bioscience) 及流式細胞儀 (FACS) 進行分析。

3. 活體外細胞感染測試:

此工作項目將檢查這些化合物是否在細胞受活體外感染時，能增強細胞的免疫力。此工作項目包含下列步驟:

a. 結核分枝桿菌生長測試

細胞在活體外感染結核分枝桿菌後，以所篩選出的化合物進行處理，並觀察結核分枝桿菌的生長是否在這些化合物的作用下受到抑制，以決定所篩選出的化合物是否能增強 *SP110* 基因所調控之免疫力。

b. 受感染細胞細胞凋亡與細胞壞死的檢測

如同前述，細胞在活體外感染結核分枝桿菌後，加入所篩選出的化合物，並觀察受感染細胞其細胞凋亡與細胞壞死的變化，以決定所篩選出的化合物是否能增強 *SP110* 基因所調控之免疫力。

參、結果

1. 高通量細胞影像分析系統篩選平台的建置：

本計劃以細胞影像分析系統作為平台進行高通量篩選改變細胞內生物活性的化合物庫。此平台為利用台大醫學院基因體醫學研究中心之高通量細胞影像分析系統 ImageXpress Micro，並以細胞模式進行生物活性分析 (cell-based bioactivity assay) 來篩選出影響這些細胞生物活性的化合物。我們以能由多西環素 (doxycycline) 處理而誘導表現出綠色螢光的 GFP-SP110b 融合蛋白之人類單核球細胞株 (THP-1) 為該模式的標的細胞。此細胞模式在以干擾素 γ 處理時會因過度或過長的激活作用而導致細胞的死亡，但在表現 GFP-SP110b 融合蛋白時，此細胞死亡的現象則會受到抑制 (圖五)。所以，此平台的建置便能以同時偵測綠色螢光 (代表 GFP-SP110b 融合蛋白的含量) 及紅色螢光 (代表細胞死亡的程度) 這兩個生物活性為基礎來篩選出同時能增強細胞綠色螢光及減少紅色螢光的化合物。

2. 增強宿主細胞免疫力之分子標的化合物的篩選：

為建立化合物庫，本計劃已回溶與分裝約 600 個化合物做為初步篩選檢測的化合物庫。並將每 80 個化合物配置於一個 96 孔盤以進行後續的高通量細胞影像分析系統測試。為了優化篩選條件，我們分別測試不同時間及不同濃度多西環素處理後，綠色螢光的殘餘強度。此外，並分別以干擾素 γ 、cisplatin 及 doxorubicin 來處理細胞使得細胞產生死亡，以進行細胞死亡測試條件的優化。本計畫若能順利實施，將可望篩選出增強 SP110 蛋白穩定性或延長該蛋白半衰期的化合物。這些化合物將可預期地增加 SP110 蛋白抑制細胞壞死進而促進細胞凋亡的能力。由於受感染細胞的細胞壞死之減少及細胞凋亡的增加將有助於宿主對抗病原菌^{23,29}，如此一來，這些所篩選出化合物將可作為增強宿主細胞免疫力的前驅藥物 (Lead compounds)。

肆、討論

本計劃以細胞影像分析系統作為平台進行高通量篩選改變細胞內生物活性的化合物庫。在這約 600 個化合物中，包含一些會引起細胞死亡的化合物，但不包含會殺死結核分枝桿菌或抑制結核分枝桿菌生長的抗生素。主要的原因是因為結核分枝桿菌會對抗生素產生抗藥性，而用增強宿主細胞免疫力的方法來對抗結核分枝桿菌，由於這些化合物是以宿主細胞為作用標的，如此可能可以避免結核分枝桿菌產生抗藥性。所以，我們的目的是希望能找到作用在宿主細胞的標的進而增強細胞免疫能力的化合物，藉此來對抗結核分枝桿菌。

為了建立分析系統的最佳測試條件，我們目前已經回溶與分裝 cisplatin 及 doxorubicin 這兩種會引起細胞死亡的化合物，並以此兩種化合物分別處理細胞來進行檢測條件的優化。目前的測試結果如圖六所示，當以 cisplatin 處理細胞，cisplatin 的濃度從 $0.6 \mu\text{M}$ 增加到 $0.12 \mu\text{M}$ 時，可看到代表細胞凋亡 (apoptosis) 的指標酵素 caspase-3 的活性明顯的增強 (即綠色的螢光訊號增強)。但 cisplatin 的濃度若持續增加 ($3 \mu\text{M}$ 增加到 $15 \mu\text{M}$)，caspase-3 的活性卻會降低。而用 doxorubicin 處理細胞時，caspase-3 的活性則隨著 doxorubicin 濃度的增加而持續的加強，亦即表示細胞凋亡現象持續的增多。Cisplatin 濃度的增加引起細胞凋亡程度先上升後下降的現象可能表示這些 Cisplatin 處理的細胞進行不同死亡模式的轉換。亦即從 apoptosis 轉換為 pyroptosis 或 necrosis。由於目前市面上沒有合適的試劑組可以在單一樣品上同時進行多個不同細胞死亡模式的測試。所以，我們目前除了將持續進行高通量的篩選之外，也將嘗試去開發出可以在單一樣品上同時測試兩個，甚至更多個不同細胞死亡模式的試劑組。如此一來，我們在進行化合物的篩選時，可以同時得知這些化合物對細胞會產生何種的死亡模式。

如上所述，我們正嘗試去開發出可以在單一樣品上同時測試兩個，甚至更多個不同細胞死亡模式的試劑組。而此一試劑組將首先包含能同時檢測 apoptosis 及 pyroptosis 兩種不同細胞死亡模式的試劑。我們目前已選定這兩種不同細胞死亡模式的指標酵素 caspase-3 及 caspase-1，藉由檢測它們的活性來得知細胞產生 apoptosis 及 pyroptosis 的程度。我們已合成有螢光標記的 caspase-3 及 caspase-1 受質 (substrate) 來作為檢測它們的試劑。而要同時使用 caspase-3 及 caspase-1 這兩個酵素的受質，則需要用不同的螢光來標記它們，以進行螢光訊號的偵測。而這兩個用來標記的螢光，彼此之間以及與用來進行篩選實驗所用的細胞株之間不能產生訊號的干擾 (我們所使用的細胞株會產生綠色的螢光)，而且要考慮到降低成本以利將來的高通量篩選。我們目前的問題便是如何選擇出這兩個適合的螢光來標記這兩個酵素的受質。為解決此問題，我們將會請教胜肽合成專家的意見，以得到最好的解決方案。

伍、結論與建議

有一個成功的藥物研發，需要很長的時間及龐大的經費，所以一個好的藥物篩選策略與方向將可減短所需的時間及減少所需的經費。結核病已是當今世上極為嚴重的公衛問題，雖經眾人的努力，卻仍有將近半個世紀的時間沒有新的抗結核病藥物上市。此顯示傳統的藥物篩選方向已經面臨了極大的困難和瓶頸。有別於傳統上以病原菌本身作為藥物作用標的的篩選及開發新藥策略，此計畫所建立的藥物篩選平台，是以細胞為標的的篩選增強宿主細胞免疫力的分子標的之化合物。此平台的建立雖離臨床使用仍有一段距離，但將對未來結核病、甚至其他感染症的治療與相關的藥物研發提供一個新的策略與方向。

此以細胞模式的生物活性分析 (cell-based bioactivity assay) 之篩選平台主要是篩選以調控宿主對結核分枝桿菌的免疫力或阻礙結核分枝桿菌對宿主防禦機制的干擾與破壞，來抑制結核分枝桿菌的生長與消滅它們的存在。而這樣的一類藥物，由於並非直接作用在結核分枝桿菌上，亦可能因而降低結核分枝桿菌產生抗藥性的機率。然而，每一種實驗方法都有其侷限性，此篩選平台亦然。例如，結核分枝桿菌除了能在巨噬細胞內生長外，亦能在樹突細胞 (dendritic cells) 及脂肪細胞 (adipocytes) 內生長，但此兩種細胞均無法在活體外進行培養，所以便無法運用在此平台上進行藥物的篩選。而此平台的篩選標準 (screening criteria)，是以干擾素 gamma (interferon- γ) 所增強的綠色螢光訊號 (green fluorescence signal) 為基準，來篩選能誘導出比此訊號強的化合物。

本院的生物安全第三等級實驗室因為有安全疑慮於去年暫停開放並進行排氣系統的整修，而整修工程因廠商的延誤導致實驗室延後至今年九月中才重新開放使用，此開放時間的延後亦嚴重影響到本計畫中活體外細胞感染測試的系統建立與實驗的進行。實驗室開放後，我們目前已經加速地建立活體外結核分枝桿菌感染細胞系統，並將在近期內完成細胞感染測試。

此計畫若將延續，我們將如審查意見所建議的增加藥物庫數量，並研發加入 TB 菌的共同篩選，以符合如計畫標題所示尋找對抗 TB 感染的新藥物。

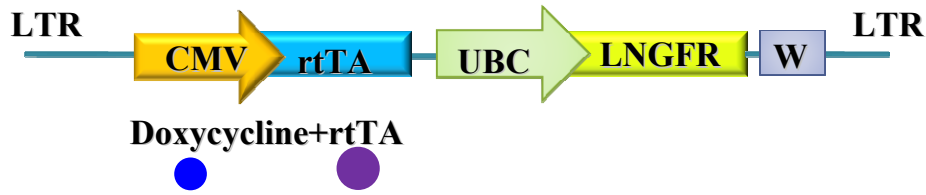
陸、参考文献

1. Lawn SD, Churchyard G: Epidemiology of HIV-associated tuberculosis. *Curr Opin HIV AIDS* 2009;4:325-333.
2. Sheno S, Friedland G: Extensively drug-resistant tuberculosis: a new face to an old pathogen. *Annu Rev Med* 2009;60:307-320.
3. Sheno S, Heysell S, Moll A, Friedland G: Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: consequences for the global HIV community. *Curr Opin Infect Dis* 2009;22:11-17.
4. Parida SK, Kaufmann SH: The quest for biomarkers in tuberculosis. *Drug Discov Today* 2010;15:148-157.
5. Dickson M, Gagnon JP: Key factors in the rising cost of new drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:417-429.
6. Williams M: Target validation. *Curr Opin Pharmacol* 2003;3:571-577.
7. Goldman RC, Laughon BE: Discovery and validation of new antitubercular compounds as potential drug leads and probes. *Tuberculosis (Edinb)* 2009;89:331-333.
8. Ballell L, Field RA, Duncan K, Young RJ: New small-molecule synthetic antimycobacterials. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:2153-2163.
9. Young DB, Perkins MD, Duncan K, Barry CE, 3rd: Confronting the scientific obstacles to global control of tuberculosis. *J Clin Invest* 2008;118:1255-1265.
10. Briken V: Molecular mechanisms of host-pathogen interactions and their potential for the discovery of new drug targets. *Curr Drug Targets* 2008;9:150-157.
11. Frieden TR, Sterling TR, Munsiff SS, Watt CJ, Dye C: Tuberculosis. *Lancet* 2003;362:887-899.
12. Casanova JL, Abel L: Genetic dissection of immunity to mycobacteria: the human model. *Annu Rev Immunol* 2002;20:581-620.
13. Casanova JL, Schurr E, Abel L, Skamene E: Forward genetics of infectious diseases: immunological impact. *Trends Immunol* 2002;23:469-472.
14. Cooke GS, Hill AV: Genetics of susceptibility to human infectious disease. *Nat Rev Genet* 2001;2:967-977.
15. Lynch CJ, Pierce-Chase CH, Dubos R: A Genetic Study of Susceptibility to Experimental Tuberculosis in Mice Infected with Mammalian Tubercle Bacilli. *J Exp Med* 1965;121:1051-1070.
16. Hill AV: The genomics and genetics of human infectious disease susceptibility. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001;2:373-400.
17. Newport MJ, Nejentsev S: Genetics of susceptibility to tuberculosis in humans. *Monaldi Arch Chest Dis* 2004;61:102-111.
18. Bellamy R: Susceptibility to mycobacterial infections: the importance of host genetics. *Genes Immun* 2003;4:4-11.
19. North RJ, Jung YJ: Immunity to tuberculosis. *Annu Rev Immunol* 2004;22:599-623.
20. Yan BS, Kirby A, Shebzukhov YV, Daly MJ, Kramnik I: Genetic architecture of tuberculosis resistance in a mouse model of infection. *Genes Immun* 2006;7:201-210.
21. Bellamy R: Genetic susceptibility to tuberculosis. *Clin Chest Med* 2005;26:233-246, vi.
22. Kramnik I, Dietrich WF, Demant P, Bloom BR: Genetic control of resistance to experimental infection with virulent *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:8560-8565.
23. Pan H, Yan BS, Rojas M, et al.: *Ipr1* gene mediates innate immunity to tuberculosis. *Nature* 2005;434:767-772.
24. Bloch DB, Nakajima A, Gulick T, et al.: Sp110 localizes to the PML-Sp100 nuclear body and may function as a nuclear hormone receptor transcriptional coactivator. *Mol Cell Biol*

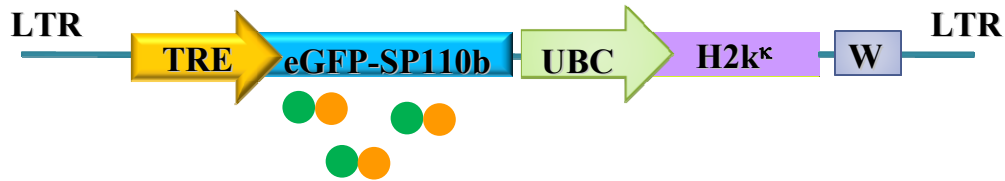
- 2000;20:6138-6146.
25. Xu J, Li Q: Review of the in vivo functions of the p160 steroid receptor coactivator family. *Mol Endocrinol* 2003;17:1681-1692.
 26. Horlein AJ, Naar AM, Heinzl T, et al.: Ligand-independent repression by the thyroid hormone receptor mediated by a nuclear receptor co-repressor. *Nature* 1995;377:397-404.
 27. Jang HD, Yoon K, Shin YJ, Kim J, Lee SY: PIAS3 suppresses NF-kappaB-mediated transcription by interacting with the p65/RelA subunit. *J Biol Chem* 2004;279:24873-24880.
 28. Winau F, Hegasy G, Kaufmann SH, Schaible UE: No life without death--apoptosis as prerequisite for T cell activation. *Apoptosis* 2005;10:707-715.
 29. Winau F, Weber S, Sad S, et al.: Apoptotic vesicles crossprime CD8 T cells and protect against tuberculosis. *Immunity* 2006;24:105-117.
 30. Lee J, Hartman M, Kornfeld H: Macrophage apoptosis in tuberculosis. *Yonsei Med J* 2009;50:1-11.
 31. Behar SM, Divangahi M, Remold HG: Evasion of innate immunity by Mycobacterium tuberculosis: is death an exit strategy? *Nat Rev Microbiol* 2010;8:668-674.
 32. Pan H, Mostoslavsky G, Eruslanov E, Kotton DN, Kramnik I: Dual-promoter lentiviral system allows inducible expression of noxious proteins in macrophages. *J Immunol Methods* 2008;329:31-44.

柒、圖表

pHAGE-CMV.rtTA.UBC. LNGFR. W

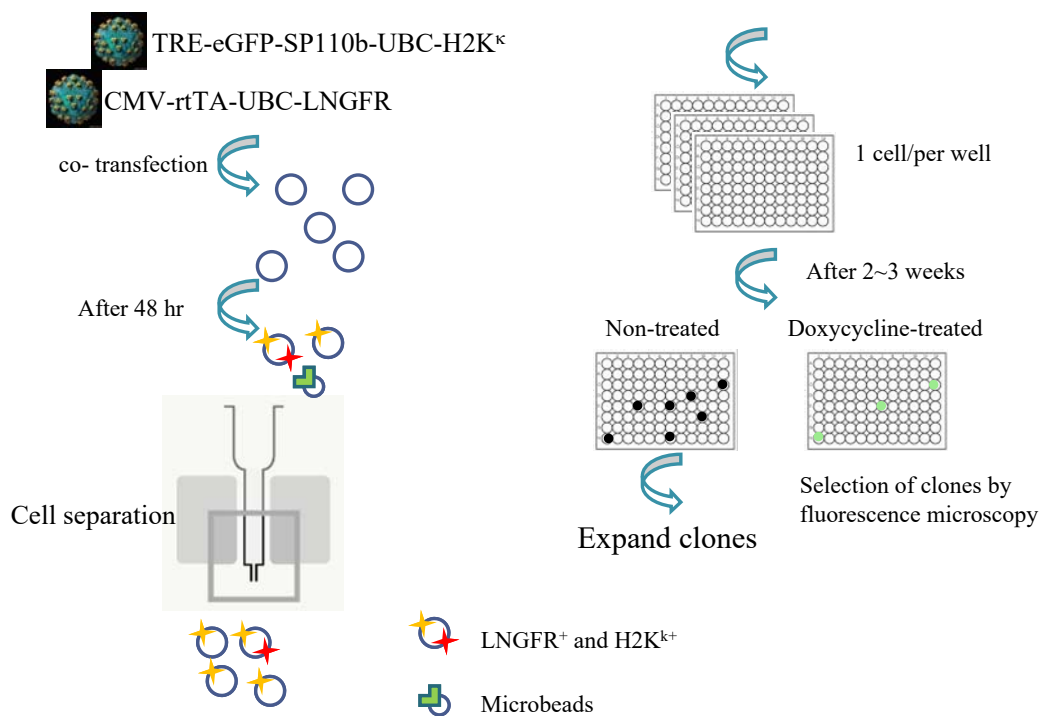


pHAGE-TRE.eGFP-SP110b.UBC. H2k^κ. W

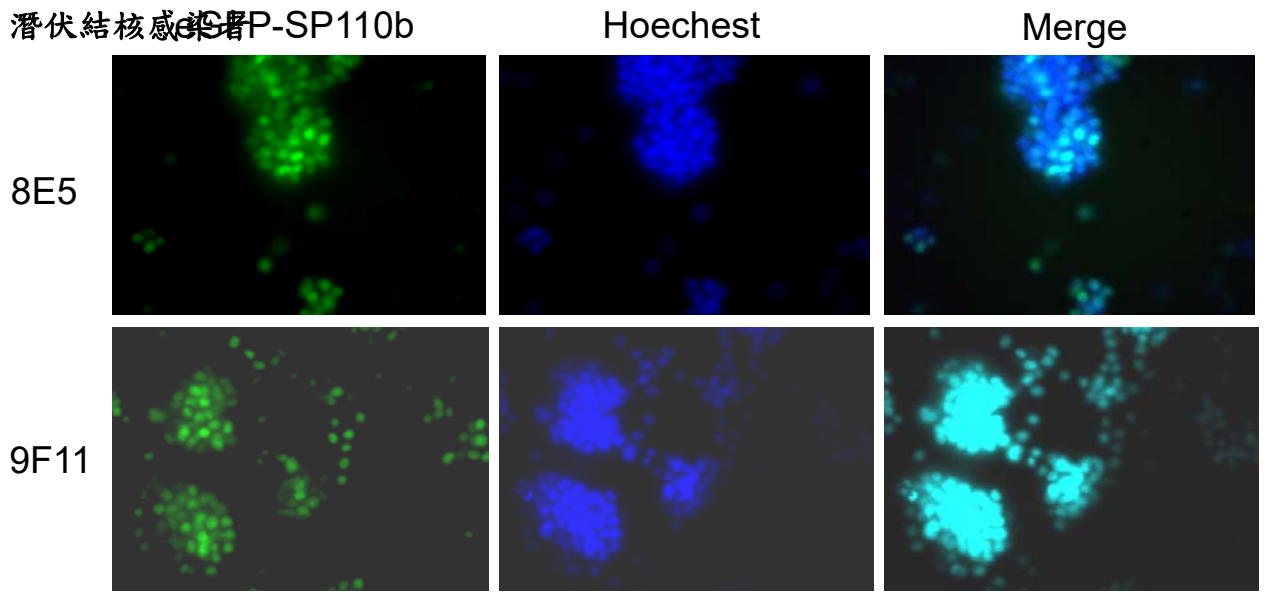


- rtTA, reverse tetracycline transactivator
- TRE, tetracyclin responsible element
- LNGFR, low-affinity nerve growth factor receptor
- H2k^κ, a murine histocompatibility antigen

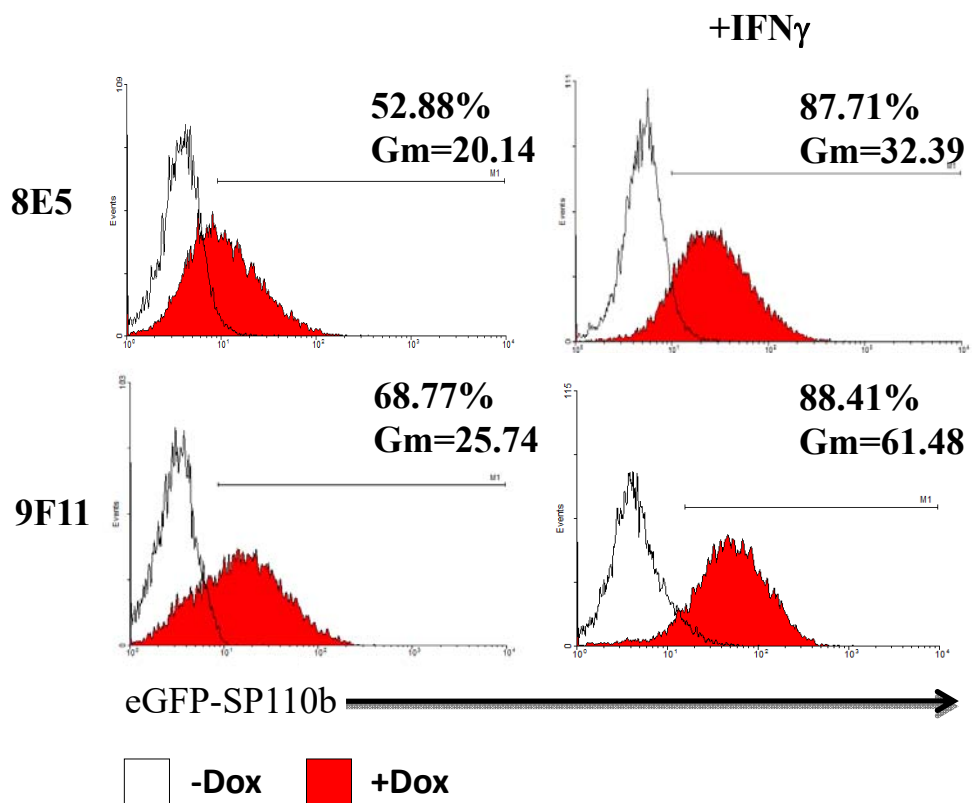
圖一 慢病毒表現系統及 GFP-SP100b 之質體構築示意圖



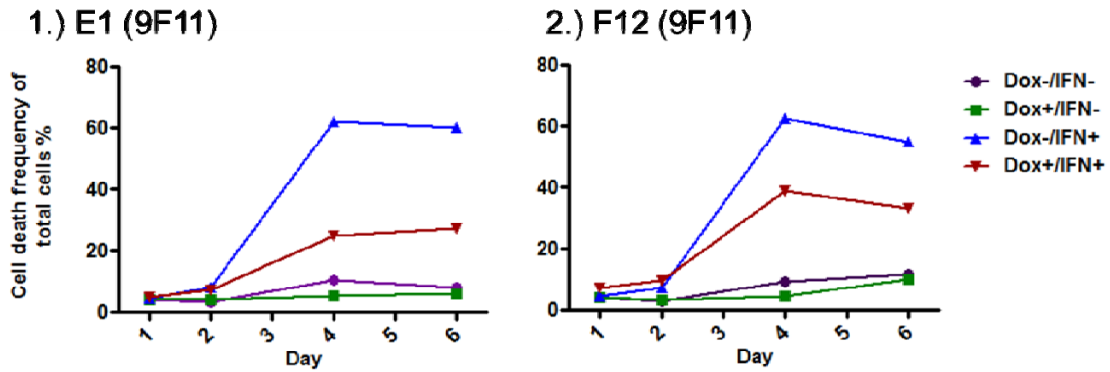
圖二 製備慢病毒表現系統誘導表現 GFP-SP100b 之細胞株示意圖



圖三 多西環素誘導表現綠色螢光的 GFP-SP100b 融合蛋白

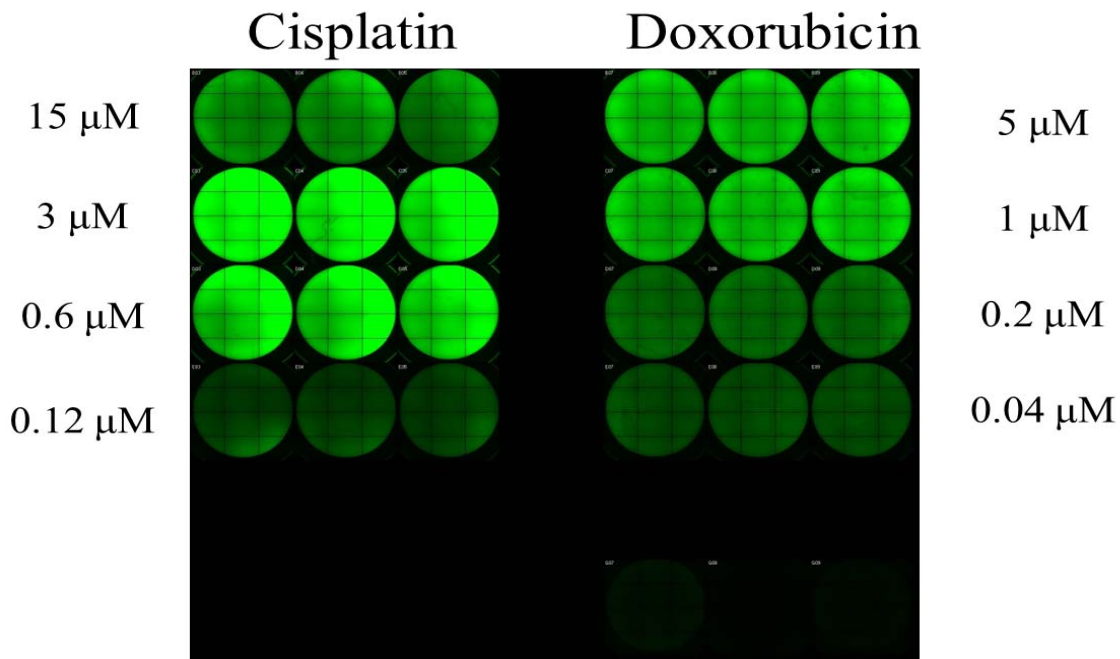


圖四 干擾素 gamma 激化細胞增強 GFP-SP100b 融合蛋白的表現量



The reduced frequency of IFN γ -induced cell death upon Dox-induced SP110b expression		The reduced frequency of IFN γ -induced cell death upon Dox-induced SP110b expression	
4 day	59.80% ↓	4 day	37.92% ↓
6 day	54.75% ↓	6 day	39.12% ↓

圖五 SP100b 蛋白的表現抑制干擾素 gamma 激化細胞造成的細胞壞死



圖六 以 caspase-3 活性測試 cisplatin 及 doxorubicin 處理細胞後所產生的不同細胞死亡模式

子計畫編號：3-1

子計畫名稱：比較兩種預防性治療處方對於結核病家庭接觸者、密切接觸者的預防成效

主持人：王振源

摘要

長時間接觸結核病個案，像是家庭接觸者、人口密集機構使用者或住民，都容易增加結核感染及發病的機率，故密切接觸者被列為結核防治的主要族群之一。本研究旨在於藉由篩選密切接觸者並針對潛伏結核感染者進行預防性治療之評估及追蹤。

本研究經人體試驗審議委員會核准，調查成人家庭接觸者及密切接觸者其潛伏結核感染之盛行情形與危險因子。研究對象為結核病確診個案之家庭、密切接觸者(與指標個案共同居住或與指標個案於可傳染期間一天內接觸 8 小時以上或累計達 40(含)小時以上之接觸者)。針對有意願參與之研究對象使用問卷調查，並採集血液檢體，以結核菌素皮膚試驗、QuantiFERON TB-Gold 方法檢驗是否受到結核感染。針對已經感染的接觸者，隨機分組進行預防性治療。

截至 2011/12/28 為止，總共納入家庭接觸者 197 人及非家庭接觸者 333 人，QuantiFERON 陽性共有 147 人，陽性率為 27.7%，以群聚感染事件之接觸者陽性率最高。QuantiFERON 陽性之危險因子為接觸過的結核病個案數 (OR=1.72, 95%CI=1.43-2.07)及抽菸習慣(OR=2.41, 95%CI=1.36-4.26)。共有 7 位接觸者接受隨機分組進行預防性治療。其中 5 位接受 isoniazid，另外 2 位接受 rifampin。有 3 位 (60%，95% CI = 22% - 88%) 接受 isoniazid 治療的接觸者發生肝毒性。針對高危險族群中的血液透析患者，共納入 243 位，分析顯示 QFT 陽性預測因子為年紀、陳舊性結核、以及血液白蛋白濃度。另外納入 242 位類風溼性關節炎病人，分析顯示原本 QFT 陰性病人，若於追蹤過程中發現 QFT 陽轉，強烈暗示該病人會發生活動性結核病。

由於密切接觸者中，得到潛伏結核感染的機率僅僅只有三分之一，針對這部分的接觸者加強結核病的追蹤及篩檢，應該可以有效避免公共衛生資源的浪費。對於成人之 isoniazid 預防性治療，仍須有更多的研究證實其安全性與有效性。

關鍵詞：家庭接觸者、密切接觸者、潛伏結核感染、丙型干擾素釋放檢測、預防性治療

Abstract

Contacts who exposed to patients with active pulmonary tuberculosis in a long duration have a high risk of latent tuberculosis infection and incidence rate of developing active disease subsequently. Therefore, contacts should be a major population of TB control. This study aimed to screening close contacts for latent tuberculosis infection and to evaluate effectiveness of preventive therapy.

This study was approved by the Institutional Review Board of each institute. Contacts that had been exposed to (living together for 8 hours a day, or exposed for 40 hours or more) infectious cases of tuberculosis for more than 8 hours in a single day or more than 40 hours within defined infectious period were enrolled. Questionnaires are given to those who gave consents and latent tuberculosis infection was screened by using QuantiFERON and tuberculin skin testing. Those with latent tuberculosis infection were randomized into 2 groups for different regimens of preventive therapy.

Up to Oct. 20, 2011, a total of 197 household contacts and 333 close contacts were enrolled. Among them, 147 (27.7%) were QuantiFERON-positive. Contacts in tuberculosis outbreak had the highest QuantiFERON-positive rate. Risk factors of QuantiFERON-positivity include number of exposed cases (OR = 1.72, 95% CI = 1.43 – 2.07) and smoking (OR = 2.41, 95% CI = 1.36 – 4.26). A total of 7 contacts received preventive therapy, including 5 receiving isoniazid and the other two receiving rifampin. Three (60%) contacts who received isoniazid experienced drug hepatotoxicity. We also enrolled 243 patients with end-stage renal disease receiving hemodialysis. Factors predicting QFT-positivity in those patients were age, old tuberculosis, and serum albumin level. We also enrolled 242 patients with rheumatoid arthritis. For them, QFT conversion was found in baseline QFT-negative patients who developed tuberculosis late in treatment.

Our study revealed that only one third of close contact had latent tuberculosis infection. Targeted follow-up and screening for active tuberculosis can reduce the cost of public health. The safety and efficacy of isoniazid preventive therapy in adult should be further evaluated.

Keywords: household contact, close contact, latent tuberculosis infection, interferon-gamma release assay, preventive therapy

壹、前言

一、研究背景及重要性

在結核病發生率較低的地區或國家中，大部分新診斷的結核病個案，發病的原因都是來自於再活化 (reactivation)，也就是之前曾被結核菌感染過、之後結核菌蟄伏於體內 (latent tuberculosis infection, LTBI)、爾後才活化造成活動性結核病 (1, 2)。因此，如何於臨床上找出潛伏性結核感染個案，並進一步投予預防性治療 (preventive therapy)，是公共衛生政策上控制、更是進一步根除結核病很重要的一環 (3)。一直到最近十年來，診斷潛伏性結核感染的方法，都是靠接觸調查 (contact investigation) 以及結核菌素皮膚試驗 (tuberculin skin testing)。然而，結核菌素皮膚試驗有著很多的問題，例如，結核菌素與卡介苗 (bacille Calmette-Guérin [BCG] vaccine) 以及環境中的非典型分枝桿菌 (NTM) 的抗原會有交互反應 (cross-reactivity)，導致偽陽性增加、陽性預測值偏低。這種情況，特別是在像台灣地區這個非典型分枝桿菌普遍存在環境、並且幾乎所有民眾均已接種卡介苗的地區，結核菌素皮膚試驗的準確度更為降低 (4)。加上近年來，不論是醫源性的免疫抑制、或是愛滋病毒的感染，免疫力低下的個案越來越多，在這樣的個案中，結核菌素皮膚試驗的偽陰性，甚至曾被報告高於 20% (5)。

近年來，由於分子生物學以及基因體學上的突飛猛進，新一代的檢驗試劑 — 丙型干擾素放試驗 (interferon-gamma release assay)，利用結核菌專一之抗原，偵測周邊血液淋巴球所產生之免疫反應，已被廣泛證實比結核菌素皮膚試驗在測量宿主對於結核菌之免疫反應時，具有更高的敏感度與特異度，同時操作上更為簡便 (6, 7)。因此，有越來越多的臨床指引推薦使用丙型干擾素放試驗，可用以取代結核菌素皮膚試驗，以診斷潛伏性結核感染 (8)。然而，究竟應該使用何種試驗來篩檢潛伏性結核感染的個案，目前仍未有定論。比較這兩者的敏感度、特異度、可近性、以及成本效益分析的研究中，孰優孰劣並不一致 (8)，而且結果十分可能因地區、民情、設備不同而有所不同。因此，如果能有台灣本土的資料，對於擬定國家公共衛生政策，將有莫大的幫助。

過去用來作為潛伏性結核感染的預防性治療處方，大致可分為幾種：(1) 九個月的 Isoniazid；(2) 四個月的 Rifampicin；(3) 兩個月的 Rifampicin 加上 Pyrazinamide；以及 (4) 三到四個月的 Isoniazid 加上 Rifampicin (9)。然而，因為有多篇報導指出，接受第三種處方進行預防性治療的接觸者，產生肝毒性的風險明顯增高 (10-12)，甚至有致死案例發生 (13)。因此，目前第三種處方以較少使用。至於第四種處方，目前的研究顯示其達成率、副作用發生率、以及結核病發病率，與接受六個月 Isoniazid 的接觸者並無明顯不同。9 個月的 Isoniazid，仍舊是目前最廣為接受的預防性治療處方 (9, 14, 15)，它的毒性低，同時與其他藥物 (例如愛滋病用藥、心臟用藥、抗凝血劑等等) 較少有交互作用，也是在所有抗結核藥物中，臨床上使用經驗最豐富的一種藥 (16)。然而，9 個月的療程，嚴重降低了這個處方的達成率 (17)。相較之下，Rifampin 同樣具有毒性低的好處 (18, 19)，而且便宜、接受度高 (20, 21)。在最近發表的文獻中，很多研究者利用統計模式、成本效益分析來比較預防性治療處方的公共衛生成效，結果大多偏向於使用 4 個月的 Rifampin (22, 23)。然而，這些研究中，多半是以預防性治療的完成率、而非以結核病的發病率來做為主要分析的參數；或者是以統計模式模擬現實狀況的研究，而非實際上執行臨床試驗的研究結果。

台灣地區，雖然仍是結核病的盛行地區，但這幾年在疾病管制局與全國醫護、公共衛生人員的努力下，結核病發生率已逐年降低。為了更進一步地降低發生率、甚至撲滅

結核病，往後的幾十年，預防潛伏性結核感染的發病，重要性將與日俱增。然而，究竟甚麼樣的公共衛生政策，甚麼樣的篩檢工具，甚麼樣的處方，對於台灣地區潛伏性結核感染的預防性治療，是最可行、預防效果最佳、投資報酬率最高選擇，目前仍然沒有足夠的臨床研究回答這個問題。

在我們之前的研究計畫中，我們發現，在北台灣地區，使用丙型干擾素釋放試驗，可以正確預測成年家庭接觸者日後發生活動性結核病的可能性，而接受 4 個月的 Rifampin 預防性治療，能夠有效預防發病，且副作用發生的機會低且不嚴重。然而，在之前的這個研究中，研究設計並非隨機分組試驗，同時，也並未比較結核菌素皮膚試驗與丙型干擾素釋放試驗的預測準確度。因此，我們設計了這個多醫院的隨機分組臨床試驗，北台灣包括國立台灣大學附設醫院、慈濟醫院台北分院、三軍總醫院，南台灣包括行政院衛生署胸腔病院。藉由長時間追蹤成年家庭接觸者、密切接觸者、以及群聚感染事件之接觸者等高發病風險族群，並給予預防性治療，比較結核菌素皮膚試驗與丙型干擾素釋放試驗對於預測結核病發病的準確性，同時探討 9 個月的 isoniazid 以及 4 個月的 rifampicin，何者最適合台灣地區作為潛伏性結核感染預防性治療的處方。

二、研究目的

1. 了解結核病之成年接觸者或結核病高發病風險族群拒絕篩檢的相關因素。
2. 了解結核菌素皮膚試驗與丙型干擾素釋放試驗對於成年家庭接觸者或結核病高發病風險族群日後結核病發病的預測準確度。
3. 了解 9 個月的 isoniazid 和 4 個月的 rifampicin 預防成年家庭接觸者或結核病高發病風險族群日後結核病發病的效力。
4. 經由成本效益分析，決定台灣地區針對成年家庭接觸者或結核病高發病風險族群最適合的潛伏性結核感染預防治療政策。

貳、材料與方法

成人家庭接觸者

針對所有痰培養陽性結核個案之成年家庭接觸者、以及透析治療或自體免疫疾病患者，經過詳細說明填妥同意書後，施行結核菌素皮膚測試，並採取週邊血液利用結核菌特有的抗原—early-secreted antigenic target 6 (ESAT-6) 和 culture filtrate protein 10 (CFP-10)—進行丙型干擾素釋放試驗。一旦任何一個測試結果陽性且符合受試條件、不具有排除條件，則進行隨機分組，其中一組接受連續九個月的 Isoniazid (每天 300 mg)，另一組接受連續四個月的 Rifampin (每天 600 mg) 則不接受任何預防治療藥物。

受試條件如下：

1. 年紀大於或等於 18 歲
2. 血紅素大於 8 g/dL
3. 嗜中性白血球大於 $0.75 \times 10^9/L$
4. 膽紅素不超過 2.5 mg/dL
5. GOT 和 GPT 小於正常臨界值的兩倍
6. 不曾有 Isoniazid 或 Rifampin 的過敏反應
7. 目前沒有懷孕或授乳

排除條件如下：

1. 接觸者證實為對 Isoniazid 或 Rifampin 具有抗藥性的結核病
2. 肝硬化病患
3. 臨床及影像學檢查有活動性結核病的證據
4. 目前急性肝炎發作
5. 目前必須使用的藥物中與 Isoniazid 或 Rifampin 有明顯的交互作用
6. 預期存活不超過三年

隨機分組方式：

利用電腦產生亂數表進行隨機分組，將受試者依照各執行醫院分為八組，其中每個醫院兩組，人數相同。隨機分組的結果將密封。

試驗流程：

在這個研究中，我們計畫在第一年中篩檢 1200 位接觸者進行篩檢，之後納入 120 人進行分組治療。每位受試者在一開始接受胸部 X 光檢查，若有呼吸道症狀，則另外採檢兩套痰進行耐酸性染色和分枝桿菌培養。排除活動性結核病之後，採血檢驗各種血球數、以及各項肝功能指數 (AST、ALT、bilirubin)。之後每半年接受胸部 X 光復檢，若有呼吸道症狀，同樣另外採檢兩套痰進行耐酸性染色和分枝桿菌培養，並同時採血進行丙型干擾素釋放試驗。直到追蹤滿三年。若追蹤過程中發現有活動性結核病的懷疑，則進一步依照臨床情況安排各項檢查。受試者於服藥期間，必須定期 (每週三次) 以電話追蹤或於門診回診時詢問有無藥物副作用產生，並於開始服藥後每兩個月採血檢驗血球數及各項肝功能指數 (AST、ALT、bilirubin)。

痰耐酸性染色和分枝桿菌培養：

在研究中，臨床收集的痰液，會在室溫下先以同體積的 NaOH-citrate-NALC 混合 15

分鐘後離心，然後根據標準流程 (24)，利用auramine-rhodamine fluorochrome染色，陽性的抹片會以Kinyoun染色再次確定。而分枝桿菌的培養則是同時接種在兩種培養基上：含有抗生素的Middlebrook 7H11選擇性培養基 (Remel Inc., Lexena, Kans.) 和利用螢光技術的BACTEC MGIT 960系統 (Becton-Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Md.)。

結核菌素皮膚試驗：

結核菌素皮膚試驗的做法，是根據現今的 Mantoux 標準方法 (25)。簡單的說，就是取 1 個單位的結核菌素 (1-tuberculin-unit PPD)，使用 27 號針頭皮下注射在前臂無靜脈處，注射的深度必須是剛好在皮膚表層之下，注射完後在皮膚的表面會有一個大約 0.6 到 1 公分的白色突起。檢驗結果必須在注射後 48 至 72 小時，也就是注射處腫脹最嚴重的時候判讀。判讀的標準是依據肉眼觀察或觸摸發現腫脹的位置，然後測量最大的橫徑。如果腫脹大於或等於 10 mm，就是陽性反應。

丙型干擾素釋放試驗：

克肺癆結核菌感染診斷試管組 (QuantiFERON®-TB Gold in tube, QFT-GIT)：先取病患3-5cc的全血，置入抗凝瓶中，再各取1cc的全血分別加至TB抗原管和Nil陰性對照管中，並搖晃試管混合均勻十次，在37°C中培養16到24小時後，此時全血已分為兩層 (上層為血清，下層為血漿)，用微量吸管小心取出血清，並以ELISA測量是否產生INF- γ 。若TB抗原的INF- γ 值減去Nil陰性對照組的INF- γ 值大於0.35 IU/mL，則為陽性代表有潛伏性結核病或結核菌感染。

詢問拒絕篩檢或預防性治療之原因：研究過程當中，對於拒絕接受篩檢、或篩檢楊姓，但不願意接受預防性治療的個案，我們將由研究護士進一步詢問拒絕的理由，包括以下幾項：

1. 不認為自己會被結核菌感染或會發生結核病：認為結核菌的傳染力應該沒有那麼大，或是認為自己很健康，被感染的機會很低。
2. 沒有時間。
3. 麻煩。
4. 害怕藥物副作用。
5. 其他：例如、參與臨床試驗但沒有足夠的補助。

資料收集處理及統計分析：

收集受試者臨床特徵，包括年齡、性別、系統性疾病、用藥史，試驗期間胸部X光、血液檢查結果，以及於各執行醫院所紀錄之臨床資料，包含病歷紀錄、實驗室檢查、影像學檢查、病理學檢查、以及治療方式和療效 (圖一、二)。綜合分析判斷是否罹患活動性結核病。有兩種情形可以診斷為結核病：第一，臨床檢體培養分離出結核菌；第二，病理檢查或胸部影像學檢查顯示為granulomatous inflammation，而且經抗結核病藥物治療後其臨床情況有明顯改善。所得結果，藉由cox proportional hazards regression analysis分析比較是否兩組之間活動性結核病的發病率是否有所不同。研究進行中，我們將每半年分析兩組發病率是否有統計上的差異，若有，則提前終止研究。

我們將利用Cox proportional hazards regression的分析方式，試圖找出發生結核病的重要影響因子、兩組之間是否有差別。為了確保迴歸統計的品質，在進行迴歸分

析當中，我們將利用basic model-fitting的技術，進行分析因子的篩選、adjusted generalized R-square的計算、以及迴歸診斷。所使用的迴歸診斷方法包括：確立proportional hazards的假設可以成立、殘差分析、偵測高影響之數據、以及共線性的診斷。在逐步篩選影響因子時，所有可能的臨床因素都包括在內，顯著值若大於0.15會被排除，反之該因子則被納入。所有統計方法當中均以雙尾p值小於0.05定義為顯著差異。所有的分析，都使用SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.)。

其他成人接觸者

本研究經人體試驗審議委員會(Institutional Review Board)審核通過，於民國一百年一月七日取得人體試驗審議委員會之「人體試驗同意函」、「人體試驗同意書」及問卷。研究期間由民國一百年三月至民國一百年十二月。

研究對象為結核病確診個案之密切接觸者(與指標個案共同居住或與指標個案於可傳染期間一天內接觸 8 小時以上或累計達 40(含)小時以上之接觸者)，研究總人次(含追蹤)達 507 人次 (26)。截至十二月下旬本研究於五處地點進行研究收案，分別為花蓮縣某醫院附設長照機構、花蓮縣某醫院、花蓮某工作單位、台北市某學校及台北市某醫院。各單位收案人數如下：

一、花蓮縣某醫院附設長照機構

此醫院於民國 99~100 年陸續有住民發病，接觸者共計 127 位，排除死亡、轉院及拒絕接受本研究者後，收案人數 115 位。

二、花蓮縣某醫院

此醫院於研究期間約有 10 位結核病新確診個案，以個案之家庭接觸者為研究對象，排除轉院、拒絕、無法聯繫者，本研究收入 7 位結核病個案之家庭接觸者 25 位。

三、花蓮市 24 小時群聚團體

此單位有 1 位結核病確診個案，因個案屬 24 小時群聚團體，其接觸者為工作單位之同事，故研究對象在排除拒絕參予者後，收案人數 58 位。

四、台北市某學校

此學校於研究期間陸續有 8 位學生發病，接觸者共計 231 位，排除拒絕及未前來參加者，收案人數 159 位。

五、台北市某醫院

收入本研究之家庭接觸者共計 3 位，3 位接觸者皆為陰性。

將針對上述有意願參與本研究之研究對象需填寫「人體試驗同意書」，隨後給予問卷調查及血液檢體採集。血液檢驗結果以電話及郵件通知個人。

本研究獲知有結核病確診個案後，與相關單位連繫能否前往收案，於徵詢對方單位同意之情況下，安排收案時間。與接觸者說明，待其瞭解本研究目的及個人權益，針對有意願參與者進行問卷調查與血液檢體採集。

血液檢體使用 Quanti-FERON[®]-TB Gold In-Tube(QFT-GIT)，檢驗結果以電話及郵件通知個人。結果呈現陽性者安排至醫院門診複查，由醫師進行問診及胸部 X 光，必要時則追加痰液檢驗及分子生物檢測。

由醫師確診為活動性結核病患則立即住院隔離治療，於治療開始每 3、6、9 個月以 QFT-GIT 評估治療成效。

若門診複查之檢驗項目皆呈陰性，於三個月後再次以 QFT-GIT 確認結果。若第二次 QFT-GIT 為陰性則於半年後追蹤。若第二次 QFT-GIT 為陽性，則判定為潛伏結核感染者，將詢問受試者是否願意進行預防性投藥治療。願意進行預防性投藥治療者得以自行選擇兩種療程。一種為服用 4 個月抗結核用藥 Rifampicin，一天 600mg。另一種為服用 9 個月抗結核用藥 Isoniazid，一天 300mg。本研究將配合用藥者回診時，以 QFT-GIT 追蹤治療成效。研究收案流程圖如圖三。

本研究所使用之研究工具為問卷調查與血液試驗。詳細內容如下述：

一、問卷調查

本研究採結構式問卷蒐集受試者之基本人口學資料、醫藥狀況、生活型態及工作環境等資訊，待其填寫完畢後，由研究人員檢查是否有漏答的題目，若發現有漏答則立即詢問受試者或以電訪方式取得正確資料。藉由問卷調查所得之訊息，進一步分析密切接觸者結核感染之危險因子。本研究之問卷內容包含下列六項：

- (一)基本人口學資料：性別、出生年月日、居住地與戶籍地、身高、體重、教育程度、婚姻狀況等。
- (二)醫藥狀況：卡介苗注射、藥物使用、個人疾病史、個人及家族結核病史等。
- (三)結核病初期症狀：是否有連續二至三個月感覺特別疲倦、不正常體重下

降、咳嗽不止、咳血、咳嗽有痰、常於午後發燒、胸口疼痛、呼吸困難等症狀。

(四)生活型態：抽菸習慣、飲酒習慣、二手菸暴露、運動習慣及半年內有無去過網咖、電影院、PUB、健身中心或網咖等。

(五)居住環境：是否與人同戶居住、親密伴侶、房間坪數、通風狀態、空調使用、空氣清淨機的使用等。

(六)工作環境：工作史、工作場所空間、空調狀況、空氣清淨機的使用等。

二、Quanti-FERON[®]-TB Gold In-Tubercia, Australia)：如前述。

三、統計分析方法：

問卷收集完畢後將由研究人員依照譯碼簿方式鍵入、除錯並建檔。最後將問卷資料與 QFT-GIT 實驗結果整合，以統計軟體 SAS9.2 版執行統計分析。

一、描述性統計：類別變項採用頻率及百分比(%)來描述資料分布之情形。連續變項採用平均值及標準差來描述料分布之情形。

二、單變項分析：類別變項以 t 檢定之方式分析。而連續變項以卡方檢定進行分析。

三、多變項分析：採用複邏輯斯迴歸分析(Multiple logistic regression)，選取於單變項分析中 p 值小於 0.25 且於三處收案單位皆有填寫之變項，於校正干擾因子後，探討相關變項其 QFT-GIT 篩檢結果呈現陽性的風險。

其他研究執行醫院

由於倫委會同意函取得之關係，另有三家醫院將於本年度 11 月開始納入結核病高危險族群進行潛伏結核篩檢及預防性治療，預估收案人數 400 人。

參、結果

成人家庭接觸者（共 169 人）

截至 2011/12/20，共篩檢 169 位家庭接觸者，均無系統性疾病，但都有接種過卡介苗。QFT-GIT 檢測陽性者有 39 人，陰性有 130 人。這 104 位家庭接觸者的臨床基本資料如表一。可以發現，QFT-GIT 陽性的接觸者，年紀似乎較大、抽菸的比例較低、且大多是住在同一間房間或屋子的接觸者（ $p = 0.049$ ），但這三項在統計上都沒有意義。

在 QFT-GIT 檢測陰性的 130 人中，有 63 人 TST 陽性，故共有 102 人診斷為潛伏結核感染。QFT-GIT 與 TST 之間，有顯著相關（Pearson's correlation = 0.06; $p = 0.024$ ）（表二）。由表中可以看出，QFT-GIT 陽性的接觸者，TST 大都也是陽性（87.2%）；而 TST 陰性者，QFT-GIT 大都也是陰性（93.0%）。但兩者結果不一致的有 68（40.2%）位。

依據接觸者 TST 及 QFT-GIT 的結果，將病人分為三群：TST(+)QFT(+)、TST(-)QFT(+)、以及 TST(+)QFT(-)。三組的臨床特徵如表三。可能是因為人數的關係，三組之間的臨床特徵並無明顯不同。

截至 2011/12/20，共有 7 位受試者接受隨機分組進行預防性治療。其他 95 位潛伏結核感染之接觸者不願意接受預防性治療的理由如表四。主要的原因是『不認為自己會發病』、『就醫不便』、以及『害怕藥物副作用』。其中『不認為自己會發病』的接觸者，平均年齡為 37.6 歲；『就醫不便』的接觸者，平均年齡為 49.1 歲；『害怕藥物副作用』的接觸者，平均年齡為 41.3 歲。

七位接受預防性治療的接觸者，其中 5 位使用 isoniazid 治療，另外 2 位使用 rifampin 治療，臨床資料如表五。目前有 3 位因為藥物副作用而中止預防性治療。這三位接觸者都是接受 INH 預防性治療的人，也都是因為肝炎而退出研究。第一位是 48 歲男性，無系統性疾病，治療至滿兩個月時臨床上沒有症狀，但抽血發現 AST 58（正常值上限的 1.6 倍）、ALT 96（正常值上限的 2.3 倍）。第二個是 52 歲男性，無系統性疾病，治療接近兩個月時產生食慾不振、倦怠等症狀，抽血檢驗發現 AST 610（正常值上限的 16.5 倍）、ALT 911（正常值上限的 22.2 倍）、total bilirubin 0.76。第三個是 42 歲女性，無系統性疾病，治療四個月時臨床上沒有症狀，但抽血檢驗發現 AST 69

(正常值上限的 2.2 倍)、ALT 111 (正常值上限的 3.6 倍)。三位受試者在停藥之後，肝功能皆恢復正常。

血液透析病人 (共 243 人)

本年度於臺大雲林分院及北護分院血液透析中心，共納入 243 位長期血液透析病人進行潛伏結核感染的篩檢，受試者臨床特性如表六。分析顯示 QFT 陽性的預測因子包括：年紀 (OR 1.032; 95% CI 1.001 – 1.064)、過去有過結核病 (OR 0.012; 95% CI 1.457 – 22.313)、以及血清白蛋白 (OR 3.624; 95% CI 1.352 – 9.713)。QFT 陽性的 50 位受試者，確實已提供相關衛教及預約胸腔、感染專科門診進行 LTBI 治療的評估，但目前僅有 1 人接受 LTBI 治療，原因是準備接受腎臟移植手術。

類風溼性關節炎病人 (共 242 人)

本年度於臺中某醫院，共納入 242 位類風溼性關節炎病人進行潛伏結核感染的篩檢，其中 75 (31.0%) 人 TST 陽性、45 (18.6%) 人 QFT 陽性。37 位 TST 及 QFT 皆陽性的病人，以及 24 位 TST 陽性蛋 QFT 陰性病人接受 isoniazid 治療。追蹤兩年之後，有 4 位病人於三個月內發生結核病、5 位病人於 20 - 24 個月後發生結核病。分析顯示原本 QFT 陰性病人，若於追蹤過程中發現 QFT 陽轉，強烈暗示該病人會發生活動性結核病。

其他成人接觸者 (共 361 人，總追蹤人次達 507 人次)

本研究於五處收案地點之密切接觸者人數共計 361 位，其中 QFT-GIT 陽性者 119 位，QFT-GIT 陰性者 242 位。整體密切接觸者陽性率為 32.96%。本研究收案總人次 (含追蹤) 達 507 人次，已達本研究之收案目標。五處收案地點各別之陽性率如下：

一、花蓮縣某醫院附設長照機構

收入本研究之接觸者共計 116 位，QFT-GIT 陽性者 47 位，QFT-GIT 陰性者 69 位。此單位陽性率為 40.52%。

二、花蓮縣某醫院

收入本研究之家庭接觸者共計 25 位，QFT-GIT 陽性者 4 位，QFT-GIT 陰

性者 21 位。此處家庭接觸者總陽性率為 16%。

三、花蓮市 24 小時群聚生活團體

收入本研究之家庭接觸者共計 58 位，QFT-GIT 陽性者 11 位，QFT-GIT 陰性者 47 位。此處接觸者總陽性率為 18.97%。

四、台北市某學校

收入本研究之接觸者共計 159 位，QFT-GIT 陽性者 57 位，QFT-GIT 陰性者 102 位。此單位陽性率為 35.85%。

五、台北市某醫院

收入本研究之家庭接觸者共計 3 位，3 位接觸者皆為陰性。

陽性率由高至低排序：花蓮縣某醫院附設長照機構(40.52%)，其次為台北市某學校(35.85%)，最低為花蓮縣某醫院(16%)。花蓮縣某醫院附設長照機構及台北市某學校之陽性率皆顯著高於花蓮市 24 小時群聚生活團體與花蓮縣某醫院家庭接觸者之陽性率。

QFT-GIT 陽性者追蹤及治療

本研究已針對花蓮縣某醫院附設長照機構之 QFT-GIT 第一次陽性者進行第二次 QFT-GIT 抽血。此單位 QFT-GIT 第一次陽性者共 47 位，第二次 QFT-GIT 抽血在排除 2 位拒絕、6 位第二次 QFT-GIT 呈陰性及 3 位新收入之受試者(因第一次 QFT-GIT 抽血時身體狀況不佳，於研究人員第二次前往時才收入，需至 12 月再進行第二次抽血)後，故目前此單位第二次 QFT-GIT 陽性者有 36 位。於 12/28 進行全部接觸者第三次追蹤(不論陽性與陰性)，共 101 位接觸者進行追蹤，33 位 QFT-GIT 呈陽性者，68 位呈現陰性。

花蓮縣某醫院收入的 25 位接觸者中，QFT-GIT 陽性者有 4 位。其中一位已於 3 個月後進行第二次 QFT-GIT 抽血確認，因第二次仍為陽性，受試者願意接受預防性投藥，於 11 月初門診後開始服藥。

北部某學校收入 159 位接觸者中，QFT-GIT 陽性者有 57 位。其中一位於第一次 QFT-GIT 陽性時便決定接受藥物治療，已於 10 月中旬開始服藥，並於服藥後 6 週與 10 週進行 QFT-GIT 追蹤。

本研究收案總人次(含追蹤)達 **507** 人次，已達本研究之收案目標。

基本人口學特性

表七為研究對象其基本人口學特性。依據 Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 檢驗結果分為陽性與陰性兩組，其中包含年齡、身高、體重、身體質量指數、性別、教育程度、婚姻狀況及收案單位。

研究對象 QFT-GIT 陽性者年齡平均值為 37.02 歲，QFT-GIT 陰性者年齡平均值為 35.37 歲，年齡與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.4341$)。

身高方面，研究對象 QFT-GIT 陽性者身高平均值為 166.7 公分，QFT-GIT 陰性者身高平均值為 165.4 公分，身高與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p=0.1773$)。

體重方面研究對象 QFT-GIT 陽性者平均體重為 63.71 公斤，QFT-GIT 陰性者平均體重為 63.31 公斤，體重與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p=0.8059$)。

身體質量指數特性方面研究對象 QFT-GIT 陽性者身體質量指數平均值為 22.83，QFT-GIT 陰性者身體質量指數平均值為 22.98，身體質量指數與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.8642$)。

性別方面，研究對象中女性共計 112 位，男性共計 244 位。QFT-GIT 陽性者中男性 83 位(70.34%)，女性 35 位(29.66%)，QFT-GIT 陰性者中男性 160 位(67.51%)，女性 77 位(32.49%)，性別與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.6290$)。

教育程度方面，分為五類，研究所、大學、專科、高中職及國(初中)以下。QFT-GIT 呈陽性者中研究所有 5 位(7.04%)，大學 46 位(64.79%)，專科 2 位(2.82%)，高中職 14 位(19.72%)，國中以下 4 位(5.63%)。QFT-GIT 呈陰性者中研究所有 16 位(9.47%)，大學 88 位(52.07%)，專科 10 位(5.92%)，高中職 44 位(26.04%)，國中以下 11 位(6.51%)。教育程度與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.4405$)。

婚姻狀況分為兩大類，單身及結婚，此變項將離婚與鰥寡併入結婚(曾經)中。QFT-GIT 陽性者中單身 104 位(90.43%)，結婚 11 位(9.57%)。QFT-GIT 呈陰性者中單身 188 位(81.74%)，結婚 42 位(18.26%)。婚姻狀況與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p=0.0394$)。

收案單位部分，分別為花蓮某醫院家庭接觸者、花蓮縣某醫院附設長照機構及台北市某學校。QFT-GIT 陽性者中花蓮某醫院家庭接觸者有 4 位(3.36%)，花蓮縣某醫院附設長照機構有 47 位(39.5%)，台北市某學校有 57 位(47.9%)，花蓮市 24 小時群聚生活團體 11 位(9.24%)。QFT-GIT 陰性者中花蓮某醫院家庭接觸者有 24 位(9.96%)，花蓮

縣某醫院附設長照機構有 68 位(28.22%)，台北市某學校有 102 位(42.32%)，花蓮市 24 小時群聚生活團體 47 位(19.5%)。收案單位與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p=0.0023$)。

研究對象 QFT-GIT 陽性者接觸過的結核病患平均 2.49 有位，QFT-GIT 陰性者接觸過的結核病患平均有 1.58 位，研究對象接觸過的結核病患數與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p<0.0001$)。

居住環境

表八為研究對象居住環境變項，其中包含家中坪數、是否與人同住、親密伴侶之有無、通風不良、冷氣使用情形及空氣清淨機之使用。

家中坪數部份，QFT-GIT 呈陽性者中家中坪數平均為 23.11 坪，QFT-GIT 呈陰性者中家中坪數平均為 24.06 坪。家中坪數與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.7092$)。

與人同住方面，QFT-GIT 呈陽性者中與人同住的有 57 位(81.43%)，未與人同住的有 13 位(18.57%)。QFT-GIT 呈陰性者中與人同住的有 152 位(89.94%)，未與人同住的有 17 位(10.06%)。是否與人同住與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.0863$)。

親密伴侶之有無部份，QFT-GIT 呈陽性者中有親密伴侶的共 31 位(43.66%)，沒有親密伴侶的共 40 位(56.34%)。QFT-GIT 呈陰性者中有親密伴侶的共 76 位(45.51%)，沒有親密伴侶的共 91 位(54.49%)。親密伴侶之有無與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.8869$)。

通風不良方面，QFT-GIT 呈陽性者中覺得居家有通風不良的情況有 9 位(12.86%)，覺得居家無通風不良之情況有 61 位(87.14%)。QFT-GIT 呈陰性者中覺得居家有通風不良的情況有 10 位(5.95%)，覺得居家無通風不良之情況有 158 位(94.05%)。通風不良之有無與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.1118$)。

冷氣使用情形部分，QFT-GIT 呈陽性者中過去三個月有使用冷氣者有 39 位(57.35%)，過去三個月沒有使用冷氣或無冷氣設備者有 29 位(42.65%)。QFT-GIT 呈陽性者中過去三個月有使用冷氣者有 85 位(50.6%)，過去三個月沒有使用冷氣或無冷氣設備者有 83 位(49.4%)。冷氣使用情形與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關

($p=0.3891$)。

家中有無空氣清淨機，QFT-GIT 呈陽性者中家裡有空氣清淨機共 6 位(8.96%)，家裡沒有空氣清淨機共 61 位(91.04%)。QFT-GIT 呈陰性者中家裡有空氣清淨機共 16 位(10.06%)，家裡沒有空氣清淨機共 143 位(89.94%)。家中有無空氣清淨機與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=1.0000$)。

工作或學校環境

表九為研究對象工作或學校環境變項，包含一週上班/上課天數、每日上班/上課時數、輪班、辦公室型式、辦公室坪數、辦公室空調使用狀況、辦公室通風不良、辦公室使用空氣清淨機。

一週上班/上課天數，QFT-GIT 陽性者一週上班/上課天數平均為 4.57 天，QFT-GIT 陰性者一週上班/上課天數平均為 5.05 天。一週上班/上課天數與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p=0.0009$)。

每日上班/上課時數，QFT-GIT 陽性者每日上班/上課時數平均為 7.93 小時，QFT-GIT 陰性者每日上班/上課時數平均為 9.02 小時。每日上班/上課時數與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.0926$)。

輪班部分，QFT-GIT 呈陽性者中 60 位(84.51%)其工作不需輪班，11 位(15.49%)其工作需輪班。QFT-GIT 呈陰性者中 137 位(84.05%)其工作不需輪班，26 位(15.95%)其工作需輪班。是否輪班與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=1.0000$)。

辦公室型式，QFT-GIT 呈陽性者中 1 位(1.43%)其辦公室型式為室內個人，69 位(98.57%)為與人共用辦公室。QFT-GIT 呈陰性者中 11 位(6.67%)其辦公室型式為室內個人，154 位(93.33%)為與人共用辦公室。辦公室型式與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p=0.0629$)。

辦公室坪數，QFT-GIT 呈陽性者中 15 位(23.44%)其辦公室坪數為 10 坪(含)以下，49 位(76.56%)其辦公室坪數為 10 坪以上。QFT-GIT 呈陰性者中 34 位(22.37%)其辦公室坪數為 10 坪(含)以下，118 位(77.63%)其辦公室坪數為 10 坪以上。辦公室坪數與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.8604$)。

辦公室空調使用狀況，QFT-GIT 呈陽性者中過去三個月有使用冷氣者有 55 位(84.62%)，過去三個月沒有使用冷氣或無冷氣設備者有 10 位(15.38%)。QFT-GIT 呈陰

性者中過去三個月有使用冷氣者有 101 位(66.45%)，過去三個月沒有使用冷氣或無冷氣設備者有 51 位(33.55%)。辦公室空調使用狀況與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.0079$)。

辦公室有無通風不良部分，QFT-GIT 呈陽性者中 54 位(84.38%)辦公室無通風不良，10 位(15.63%)辦公室有通風不良的情況。QFT-GIT 呈陰性者中 105 位(69.54%)辦公室無通風不良，46 位(30.46%)辦公室有通風不良的情況。辦公室有無通風不良與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p=0.0270$)。

辦公室空氣清淨機使用情形，QFT-GIT 呈陽性者中 3 位(4.62%) 辦公室會使用空氣清淨機，62 位(95.38%) 辦公室不使用或沒有空氣清淨機。QFT-GIT 呈陰性者中 6 位(3.92%) 辦公室會使用空氣清淨機，147 位(96.08%) 辦公室不使用或沒有空氣清淨機。辦公室空氣清淨機使用情形與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=1.0000$)。

生活型態

表十為研究對象生活型態變項，其中包含抽菸習慣、飲酒習慣、二手菸暴露、運動習慣及半年內有無去過網咖、電影院、PUB、健身中心或網咖。

抽菸習慣方面，QFT-GIT 呈陽性者中 67 位(56.78%)從來不抽菸，40 位(33.9%)以前有抽菸習慣，11 位(9.32%)目前有抽菸習慣。QFT-GIT 呈陰性者中 141 位(59.75%)從來不抽菸，53 位(22.46%)以前有抽菸習慣，42 位(17.8%)目前有抽菸習慣。抽菸習慣之有無與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.0185$)。

二手菸暴露史方面，QFT-GIT 呈陽性者中 65 位(55.08%)未有二手菸暴露史，53 位(44.92%)有二手菸暴露史。QFT-GIT 呈陰性者中 144 位(61.02%)未有二手菸暴露史，92 位(38.98%)有二手菸暴露史。二手菸暴露史之有無與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.3034$)。

飲酒習慣方面，QFT-GIT 呈陽性者中 102 位(86.44%)從來不喝或很少喝，4 位(3.39%)以前有飲酒習慣，12 位(10.17%)目前有飲酒習慣。QFT-GIT 呈陰性者中 195 位(82.63%)從來不喝或很少喝，10 位(4.24%)以前有飲酒習慣，31 位(13.14%)目前有飲酒習慣。飲酒習慣之有無與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.6541$)。

運動習慣之有無，QFT-GIT 呈陽性者中 11 位(15.71%)未有運動習慣，20 位(28.57

%)每月運動 1~3 次, 24 位(34.29%)每週運動 1~2 次, 9 位(12.86%)每週運動 3~4 次, 6 位(8.57%)幾乎每天運動。QFT-GIT 呈陰性者中 17 位(10.18%)未有運動習慣, 43 位(25.75%)每月運動 1~3 次, 49 位(29.34%)每週運動 1~2 次, 28 位(16.77%)每週運動 3~4 次, 30 位(17.92%)幾乎每天運動。運動習慣之有無與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.2707$)。

半年內有無去過電影院, QFT-GIT 呈陽性者中 10 位(14.08%)半年內未曾去過電影院, 61 位(85.92%)半年內曾去過電影院。QFT-GIT 呈陰性者中 53 位(31.74%)半年內未去過電影院, 114 位(68.26%)半年內曾去過電影院。半年內有無去過電影院與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p=0.0060$)。

半年內有無去過 KTV, QFT-GIT 呈陽性者中 17 位(23.94%)半年內未曾去過 KTV 院, 54 位(76.06%)半年內曾去過 KTV。QFT-GIT 呈陰性者中 80 位(47.90%)半年內未去過 KTV, 87 位(52.10%)半年內曾去過 KTV。半年內有無去過 KTV 與 QFT-GIT 結果兩者間達統計上顯著相關($p<0.0001$)。

半年內有無去過 PUB, QFT-GIT 呈陽性者中 51 位(71.83%)半年內未曾去過 PUB, 20 位(28.17%)半年內曾去過 PUB。QFT-GIT 呈陰性者中 132 位(79.04%)半年內未去過 PUB, 35 位(20.96%)半年內曾去過 PUB。半年內有無去過 PUB 與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.2422$)。

半年內有無去過健身中心, QFT-GIT 呈陽性者中 57 位(80.28%)半年內未曾去過健身中心, 14 位(19.72%)半年內曾去過健身中心。QFT-GIT 呈陰性者中 136 位(81.44%)半年內未去過健身中心, 31 位(18.56%)半年內曾去過健身中心。半年內有無去過健身中心與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.8574$)。

半年內有無去過網咖, QFT-GIT 呈陽性者中 48 位(67.61%)半年內未曾去過網咖, 23 位(32.39%)半年內曾去過網咖。QFT-GIT 呈陰性者中 118 位(70.66%)半年內未去過網咖, 49 位(29.34%)半年內曾去過網咖。半年內有無去過網咖與 QFT-GIT 結果兩者間未達統計上顯著相關($p=0.6464$)。

Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性之危險因子

表五為 Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性之危險因子。在校正干擾因子之

後，接觸過的結核病患人數及一週工作天數為 Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性之危險因子。

接觸者每多暴露一位結核病患，則 QFT-GIT 呈現陽性的機率即增加 72%。95%信賴區間為 1.43-2.07，p 值小於 0.0001。

目前或以前有抽菸習慣者 QFT-GIT 呈現陽性的機率為沒有抽菸習慣者的 2.41 倍。95%信賴區間為 1.36-4.26，p 值為 0.0025。

其他結核病高危險族群潛伏結核篩檢及預防性治療

由於倫委會同意函取得之關係，另有三家醫院將於本年度 11 月開始納入結核病高危險族群進行潛伏結核篩檢及預防性治療，預估收案人數 400 人。

肆、討論

家庭接觸者的潛伏結核感染

研究結果可以發現，針對家庭接觸者進行 TST 及 QFT-GIT 檢測，兩者雖有明顯相關，但是前者的陽性率偏高，可能的理由是研究的族群大多數是 25 歲以上的成人，在這些人未成年時的公共衛生政策是出生後施打第一次卡介苗，並且在小學時追加一劑。這樣的公共衛生政策，會因為結核菌素與卡介苗之間的 cross reactivity 而造成 TST 的偽陽性增高。但由於觀察的時間只有不到半年，目前並無接觸者發生活動性結核病，也因此無法判斷究竟是 TST 還是 QFT-GIT 的預測比較準確。

如果以 QFT-GIT 陽性當成是確定為潛伏結核感染的人，那麼，怎樣的公共衛生政策，才是最經濟、最具有成效的篩檢方式呢？第一種選擇，是針對所有的接觸者，例如 1,000 人，全面以 QFT-GIT 篩檢，假設這樣的成本，一個人是 x ，總共 $1000x$ ，可以篩出 $1000 * (24/104) = 231$ 個潛伏結核感染的人；第二個選擇，是使用 TST 針對所有的接觸者先篩檢一次，如果有 1,000 人，成本是 $1000y$ ，可以篩出 $1000 * (61/104) = 587$ 個 TST 陽性的接觸者，之後再以 QFT-GIT 第二次篩檢，成本為 $587x$ ，可以篩出 $587 * (21/61) = 202$ 個 TST 以及 QFT 接為陽性的接觸者，總共成本為 $1000y + 587x$ 。但是，確可能漏掉 $(1000 - 587) * (3/43) = 30$ 個 TST 陰性但是 QFT-GIT 陽性的潛伏結核感染者。以現在的實際成本，一次的 TST 檢測約為 80 元，而 QFT-GIT 約為 800 元。在第一個選擇中，診斷一個潛伏結核感染的人需要 $1000 * 800 / 231 = 3463$ 元，但不會遺漏任何一個潛伏結核感染者。而在第二個選擇中，診斷一個潛伏結核感染的人需要 $(1000 * 80 + 587 * 800) / 202 = 2721$ 元，但卻會遺漏任何 30 個潛伏結核感染者。後者比較符合成本效益 (27)，但是卻會有漏網之魚。究竟選擇哪一個篩檢流程比較妥當，上需要更多的研究以支持。

根據文獻報告的預估用 isoniazid 或是 rifampin 進行潛伏結核感染之預防性治療過程中，引起肝功能指數上升的機率為 0.2 ~ 1.2% (16, 18, 19)。但目前接受 isoniazid 治療的 5 位家庭接觸者中，有 4 位 (80%) 產生肝毒性，發生之比例明顯高於文獻資料。由於這 4 位接觸者均無系統系疾病，也無 B、C 型肝炎病毒或愛滋病毒感染，同時治療前肝功能也都正常，發生肝炎之前也沒有特殊藥物或食物上的暴露，因此高度懷疑都是藥物性肝毒性。發生肝毒性的比例如此之高可能的原因有下列幾個：

5. 研究中未進行 N-acetyl transferase 2 基因行鑑定，因此無法排除因為基因上的特異性而發生藥物性肝炎 (28)。
6. 年紀過大 (29, 30)。
7. 研究中並未登記受試者生活習慣、工作狀況、以及睡眠狀況。受試者可能長期熬夜、工作壓力大...
8. 其他未知之肝病。由於投藥之前並未進行肝臟超音波檢查，可能有其他肝病沒有被診斷出來

不過，這樣的研究結果，確實也讓我們了解，如果要在比較大的年齡層進行預防性治療，光光是投藥前的肝功能檢測、病毒血清學檢測，可能都不足以避免肝毒性的發生，此外，應該考慮進行藥物性肝炎相關基因型檢測。

各單位密切接觸者陽性率之比較

本研究密切接觸者總陽性率為 32.69%。三處收案地點各別之陽性率由高至低排序：花蓮縣某醫院附設長照機構(40.52%)，其次為台北市某學校(35.85%)，最低為花蓮縣某醫院(16%)。代表群聚感染事件接觸者可能重複暴露至多個結核病患，致使其感染機率較高。由於長照機構之接觸者可歸類為 24 小時群聚生活團體，住民們生活作息皆一起行動，故其陽性率最高。2010 年德國 Roland 等學者之研究，將痰培養確診之結核病患接觸者暴露時間分為 ≤ 8 、 $8\sim 40$ 及 > 40 小時，以暴露時間 ≤ 8 為對照組，結果顯示暴露時間 $8\sim 40$ 及 > 40 小時者其 QFT-GIT 呈陽性的風險分別為對照組的 1.8 倍、5.7 倍，證實與指標個案接觸時間愈長，則結核感染之風險愈大 (31)。

花蓮縣某醫院附設長照機構 QFT-GIT 陽性率 40.52% 高於 Ferrara 學者等人於義大利某療養院 QFT-GIT 陽性率 22.2% 及 Stamatis 學者等人於希臘某療養院 TST 陽性率 31.7% (32, 33)。療養院與長照機構之住民年齡偏高，人體免疫力隨著年齡增加而降低，致使老年人為結核感染高危險族群，而本研究之陽性率皆高於義大利與希臘之研究，可能因為此單位於兩年間三個病房中陸續有十多位住民被確診為結核病，導致其他住民可能重複暴露結核病確診個案。

台北市某學校 QFT-GIT 陽性率 35.85% 略高於 Kekkaku 學者等人於日本某大學

QFT-G 陽性率 32.7% (34)。台北市某學校結核病個案集中於 A 及 B 系學生，同班同學長時間與結核病患處在密閉式空間上課，加上個人衛生觀念不足，可能於發病初期未攜帶口罩，諸多因素使得 QFT-GIT 陽性率較高。

花蓮縣某醫院收入家庭接觸者陽性率 16%略低於國內中部地區多重抗藥性結核病患之家庭接觸者 QFT-GIT 陽性率 19% (35)。花蓮某醫院家庭接觸者陽性較低，可能是由於本研究中家庭接觸者以家族為主，除了與指標個案同戶居住的家人外，也收入其他未與指標個案同戶居住的家人。未與指標個案同戶居住的家人結核感染機率較低，因而稀釋整體家庭接觸者的陽性率數據。

Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性之危險因子探討

由接觸過的結核病患人數及抽菸習慣為 Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性之危險因子。

1. 接觸過的結核病患人數

本研究中接觸者每多暴露一位結核病患，則 QFT-GIT 呈現陽性的機率即增加 72%。由於本研究收入兩起結核群聚感染事件之接觸者，兩個單位結核病個案數分別為 16 位及 8 位。群聚感染之接觸者易重覆暴露不同之結核病患，若再加上通風系統運作不佳、空間擁擠等因素，導致其受到感染的機會大幅增加。兩起結核群聚感染事件中之某單位，因其為 24 小時群聚生活，且住民大部分為精神病患，待護理人員察覺其症狀時，可能已過一段時間。於具感染力期間，除了接觸至許多住民外，亦可能傳染照護及醫療人員。

接觸者暴露的結核病患數越多，代表暴露結核菌的時間及頻率增加。Roland 等學者針對 1794 位接觸者之研究，將接觸者與結核病患接觸的時間分為 40~60、60~100、100~200 及大於 200 小時，結果顯示累積接觸時間愈長，QFT-GIT 呈陽性的風險愈高，接觸時間與 QFT-GIT 陽性具有相關性 (36)。同一研究團隊隔年發表之研究亦有相似的結果，接觸時間分為 ≤ 8 、8~40 及 > 40 小時，各組別 QFT-GIT 陽性率分別為 21.1%、31.8%、48.5%，隨著組別增加而上升，接觸時間與 QFT-GIT 陽性具相關性 (31)。此外，Moran 等人之研究依照暴露程度將接觸者分為家庭接觸者、密切接觸者及偶然接觸者，

將偶然接觸者列為對照組別，結果顯示家庭接觸者結核病發生率為偶然接觸者的 8.47 倍，密切接觸者結核病發生率為偶然接觸者的 2.53 倍 (37)。

2. 抽菸習慣

目前或以前有抽菸習慣者 QFT-GIT 呈現陽性的機率為沒有抽菸習慣者的 2.41 倍，代表有過抽菸習慣者其受到結核感染之機率較高。

國內林氏等人之前瞻性研究藉由國家健康調查資料結合健保資料庫評估活動性結核病之發生率，結果顯示目前有抽菸習慣者其結核病發生率為未有抽菸習慣者的 1.94 倍，此外研究亦發現隨著每日抽菸量、抽菸年數及一年抽菸的包數增加，活動性結核病發生率亦跟著上升 (38)。

南韓 Jee 等學者針對 1,294,504 位民眾執行前瞻性研究，依照其抽菸習慣評估各組別結核病之發生率、死亡率及復發風險，結果顯示男性抽菸者結核病死亡率為未抽菸者的 1.6 倍，且目前仍有抽菸習慣之男性其結核病發生率為曾有抽菸習慣男性的 1.4 倍 (39)。女性部份，抽菸者結核病死亡率為未抽菸者的 1.6 倍，抽菸習慣則與結核病發生率無相關(39)。

印度 Prasad 等學者以結核病患為研究對象，另外選取健康的人為對照組，於校正相關干擾因子後，抽菸者其日後發展為結核病的風險為未抽菸者的 3.8 倍 (40)。

上述多篇文獻皆顯示抽菸習慣與結核病之相關性。此外，國內溫氏等人之研究顯示抽菸者其結核病死亡率的風險為未抽菸者的 8.56 倍，若抽菸者戒菸，則抽菸者結核病死亡率的風險可減少 65%，由此可看出吸煙對於結核病病情之影響 (41)。

伍、研究限制

本研究採自願參與之方式，且篩檢工具為侵入性之血液試驗，故可能會有接觸者，拒絕參與研究。

預防性治療所需時間數月，往返醫院往往耽誤許多時間，降低潛伏感染者服藥的意願。

從爆發結核病事件至本研究前往收案，接觸者可能因為其個人因素離開此單位，可能導致研究人員無法完整篩檢所有的密切接觸者。爆發結核病事件之單位，因擔心公開疫情會導致大眾恐慌，故對此事件保持低調處理之狀態。接觸者們於未清楚瞭解實際情況下填寫問卷，研究人員難以蒐集接觸者們實際暴露至結核病個案之相關資料，可能會降低問卷之可信度。

目前一般民眾難以接受在未發病的情況下進行預防性投藥之相關事宜，導致願意接受治療者佔極少數，故 QFT-GIT 陽性者追蹤及治療的部分，需要較長的時間才能得知其成效。

陸、結論與建議

1. 本研究家庭以及密切接觸者陽性率約為三分之一，應該努力篩檢並進一步給予預防性治療，以降低日後的發病率。
2. TST 與 QFT-GIT 有很高的相關性，但 TST 的偽陽性較高，導致單用 TST 進行篩檢成本效益較低。建議應藉由 QFT-GIT 的高特异性進一步確定潛伏結核感染，以提高公共衛生的資源利用效益。
3. 目前國內針對密切接觸者檢查採用胸部 X 光及皮膚結核菌素試驗，在尚未發展出潛伏結核感染之黃金診斷標準以前，建議可暫時將丙型干擾素釋放法列為密切接觸者結核感染篩檢項目之一。
4. 具有意義之 Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性危險因子為接觸過的結核病患人數。
5. 建議衛生單位建立全國密切接觸者管理系統，每半年至一年需督促結核病接觸者做胸部 X 光檢查，以利日後定期追蹤。

柒、計畫重要成果及國家政策應用之具體建議

一、本計畫之新發現或新發明

本研究結核感染陽性率相較於其他文獻高，亦顯示群聚感染事件中之接觸者其陽性率顯著高於結核病患之家庭接觸者，代表群聚感染事件接觸者可能重複暴露至多個結核病患，致使其感染機率較高。

成人的預防性治療，在某些特殊族群當中，可能有較高的比例發生肝毒性，需要有更多的研究以避免藥物性肝炎的發生。

除了安全性以外，簡化預防性治療的流程，以增加可近性，並衛教民眾潛伏結核感染可能造成的未來傷害以及預防性治療的重要性。

二、本計畫對民眾具教育宣導之成果

本研究經由醫師對結核病患之家屬進行衛生教育宣導，清楚地讓家屬瞭解結核病相關知識，避免恐慌。此外，本研究亦免費提供接觸者另一項新的結核感染篩檢，讓接觸者知道自身是否受到結核菌感染。若檢驗結果呈陽性，待醫師詳細分析治療與否的利益得失，接觸者可自行選擇是否接受藥物治療，若接觸者不願意接受治療，則醫師將告知接觸者結核病初期之症狀，如果日後發病，其本身較有所警覺，得以提早就醫。

三、本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

由於密切接觸者陽性率較高，建議日後仍需加強對密切接觸者之篩檢。目前國內針對密切接觸者檢查採用胸部 X 光及皮膚結核菌素試驗，在尚未發展出潛伏結核感染之黃金診斷標準以前，建議可暫時將丙型干擾素釋放法列為密切接觸者結核感染篩檢項目之一。亦建議衛生單位建立全國密切接觸者管理系統，每半年至一年需督促結核病接觸者做胸部 X 光檢查，以利日後定期追蹤。

捌、參考文獻

1. Styblo K. Recent advances in epidemiological research in tuberculosis. *Adv Tuberc Res.* 1980;20:1-63. Epub 1980/01/01.
2. Chiang CY, Riley LW. Exogenous reinfection in tuberculosis. *Lancet Infect Dis.* 2005;5(10):629-36. Epub 2005/09/27.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Essential components of a tuberculosis prevention and control program. Recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis. *MMWR Recomm Rep.* 1995;44(RR-11):1-16. Epub 1995/09/08.
4. Huebner RE, Schein MF, Bass JB, Jr. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis.* 1993;17(6):968-75. Epub 1993/12/01.
5. Daniel Fitzgerald DWH. *Mycobacterium tuberculosis*. In: Mandell B, & Dolin, editor. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. New York: Churchill Livingstone; 2005. p. 2852-85.
6. Pai M, Riley LW, Colford JM, Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2004;4(12):761-76. Epub 2004/11/30.
7. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med.* 2007;146(5):340-54.
8. Mazurek M, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K. Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep.* 2010;59(RR-5):1-25. Epub 2010/06/26.
9. Lobue P, Menzies D. Treatment of latent tuberculosis infection: An update. *Respirology.* 2010;15(4):603-22. Epub 2010/04/23.
10. Fatal and severe hepatitis associated with rifampin and pyrazinamide for the treatment of latent tuberculosis infection--New York and Georgia, 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2001;50(15):289-91. Epub 2001/05/02.
11. Ijaz K, Jereb JA, Lambert LA, Bower WA, Spradling PR, McElroy PD, et al. Severe or fatal liver injury in 50 patients in the United States taking rifampin and pyrazinamide for latent tuberculosis infection. *Clin Infect Dis.* 2006;42(3):346-55. Epub 2006/01/05.
12. McElroy PD, Ijaz K, Lambert LA, Jereb JA, Iademarco MF, Castro KG, et al. National survey to measure rates of liver injury, hospitalization, and death associated with rifampin and pyrazinamide for latent tuberculosis infection. *Clin Infect Dis.* 2005;41(8):1125-33. Epub 2005/09/16.
13. Medinger A. Death associated with rifampin and pyrazinamide 2-month treatment of latent mycobacterium tuberculosis. *Chest.* 2002;121(5):1710-2. Epub 2002/05/15.
14. Leung CC, Rieder HL, Lange C, Yew WW. Treatment of latent infection with m. tuberculosis: update 2010. *Eur Respir J.* 2010. Epub 2010/08/10.
15. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This is a Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). This statement was endorsed by the Council of the Infectious Diseases Society of America. (IDSA), September 1999, and the sections of this statement. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(4 Pt 2):S221-47. Epub 2000/04/14.
16. Sterling TR, Bethel J, Goldberg S, Weinfurter P, Yun L, Horsburgh CR. The scope and impact of treatment of latent tuberculosis infection in the United States and Canada. *Am J*

- Respir Crit Care Med. 2006;173(8):927-31. Epub 2006/01/21.
17. Hirsch-Moverman Y, Daftary A, Franks J, Colson PW. Adherence to treatment for latent tuberculosis infection: systematic review of studies in the US and Canada. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008;12(11):1235-54. Epub 2008/10/18.
 18. A double-blind placebo-controlled clinical trial of three antituberculosis chemoprophylaxis regimens in patients with silicosis in Hong Kong. Hong Kong Chest Service/Tuberculosis Research Centre, Madras/British Medical Research Council. *Am Rev Respir Dis.* 1992;145(1):36-41. Epub 1992/01/01.
 19. Yee D, Valiquette C, Pelletier M, Parisien I, Rocher I, Menzies D. Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167(11):1472-7. Epub 2003/02/06.
 20. Gordin F, Chaisson RE, Matts JP, Miller C, de Lourdes Garcia M, Hafner R, et al. Rifampin and pyrazinamide vs isoniazid for prevention of tuberculosis in HIV-infected persons: an international randomized trial. Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS, the Adult AIDS Clinical Trials Group, the Pan American Health Organization, and the Centers for Disease Control and Prevention Study Group. *JAMA.* 2000;283(11):1445-50. Epub 2000/03/25.
 21. Halsey NA, Coberly JS, Desormeaux J, Losikoff P, Atkinson J, Moulton LH, et al. Randomised trial of isoniazid versus rifampicin and pyrazinamide for prevention of tuberculosis in HIV-1 infection. *Lancet.* 1998;351(9105):786-92. Epub 1998/03/31.
 22. Aspler A, Long R, Trajman A, Dion MJ, Khan K, Schwartzman K, et al. Impact of treatment completion, intolerance and adverse events on health system costs in a randomised trial of 4 months rifampin or 9 months isoniazid for latent TB. *Thorax.* 2010;65(7):582-7. Epub 2010/07/16.
 23. Holland DP, Sanders GD, Hamilton CD, Stout JE. Costs and cost-effectiveness of four treatment regimens for latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179(11):1055-60. Epub 2009/03/21.
 24. Pfyffer GE, C. GrM, Brown-Elliott BA. Myobacterium. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology* 9th ed: American Society for Microbiology, Washington, DC 2007. p. 543~72.
 25. Blumberg HM, Burman WJ, Chaisson RE, Daley CL, Etkind SC, Friedman LN, et al. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: treatment of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167(4):603-62.
 26. 疾病管制局. 結核病防治工作手冊-第二版. 2010.
 27. Diel R, Nienhaus A, Loddenkemper R. Cost-effectiveness of interferon-gamma release assay screening for latent tuberculosis infection treatment in Germany. *Chest.* 2007;131(5):1424-34. Epub 2007/05/15.
 28. Wang JY, Liu CH, Hu FC, Chang HC, Liu JL, Chen JM, et al. Risk factors of hepatitis during Anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. *J Infect.* 2011. Epub 2011/05/17.
 29. Severe isoniazid-associated liver injuries among persons being treated for latent tuberculosis infection - United States, 2004-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010;59(8):224-9. Epub 2010/03/06.
 30. Kunst H, Khan KS. Age-related risk of hepatotoxicity in the treatment of latent tuberculosis infection: a systematic review. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2010;14(11):1374-81. Epub 2010/10/13.
 31. Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, Gottschalk R, Nienhaus A. Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In Tube assay, and

- T-Spot.TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest*. 2009;135(4):1010-8. Epub 2008/11/20.
32. Ferrara G, Losi M, D'Amico R, Cagarelli R, Pezzi AM, Meacci M, et al. Interferon-gamma-release assays detect recent tuberculosis re-infection in elderly contacts. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2009;22(3):669-77. Epub 2009/10/14.
 33. Katsenos S, Nikolopoulou M, Gartzonika C, Manda-Stachouli C, Gogali A, Grypaiou C, et al. Use of interferon-gamma release assay for latent tuberculosis infection screening in older adults exposed to tuberculosis in a nursing home. *J Am Geriatr Soc*. 2011;59(5):858-62. Epub 2011/04/27.
 34. Funayama K, Tsujimoto A, Mori M, Yamamoto H, Fujiwara K, Nishimura T, et al. [Usefulness of QuantiFERON TB-2G in contact investigation of a tuberculosis outbreak in a university]. *Kekkaku*. 2005;80(7):527-34. Epub 2005/09/20.
 35. Huang YW, Shen GH, Lee JJ, Yang WT. Latent tuberculosis infection among close contacts of multidrug-resistant tuberculosis patients in central Taiwan. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010;14(11):1430-5. Epub 2010/10/13.
 36. Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, Niemann S, Nienhaus A. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the development of active tuberculosis disease after recent infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177(10):1164-70. Epub 2008/02/16.
 37. Moran-Mendoza O, Marion SA, Elwood K, Patrick D, FitzGerald JM. Risk factors for developing tuberculosis: a 12-year follow-up of contacts of tuberculosis cases. *Int J Tuberc Lung Dis*. 14(9):1112-9. Epub 2010/09/08.
 38. Lin HH, Ezzati M, Chang HY, Murray M. Association between tobacco smoking and active tuberculosis in Taiwan: prospective cohort study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180(5):475-80. Epub 2009/06/23.
 39. Jee SH, Golub JE, Jo J, Park IS, Ohrr H, Samet JM. Smoking and risk of tuberculosis incidence, mortality, and recurrence in South Korean men and women. *Am J Epidemiol*. 2009;170(12):1478-85. Epub 2009/11/18.
 40. Prasad R, Garg R, Singhal S, Dawar R, Agarwal GG. A case-control study of tobacco smoking and tuberculosis in India. *Ann Thorac Med*. 2009;4(4):208-10. Epub 2009/11/03.
 41. Wen CP, Chan TC, Chan HT, Tsai MK, Cheng TY, Tsai SP. The reduction of tuberculosis risks by smoking cessation. *BMC Infect Dis*. 2010;10:156. Epub 2010/06/10.

圖二、隨機分組預防性治療資料

納入日期 姓名
病歷號碼 生日
身分證 性別

身高 體重
抽菸 菸齡：年
菸量：每天幾包

糖尿病
慢性腎衰竭
惡性腫瘤
自體免疫
其他疾病

指標關係
暴露程度
指標病歷號碼
指標身分證字號

結案日期 負責人
結案原因
非感染或發病危險群
沒有時間
麻煩
害怕藥物副作用
其他

備註

納入條件 指標個案 血液檢驗 結核檢測 研究編號

Age > 18 H/R過敏 抗藥
Hb > 8 交互作用
Seg > 750 懷孕或授乳
Bil.T < 2.5 肝硬化
AST/ALT < 2N 活動性結核病
存活不過三年

隨機分組
組別
開始用藥
劑量
備註

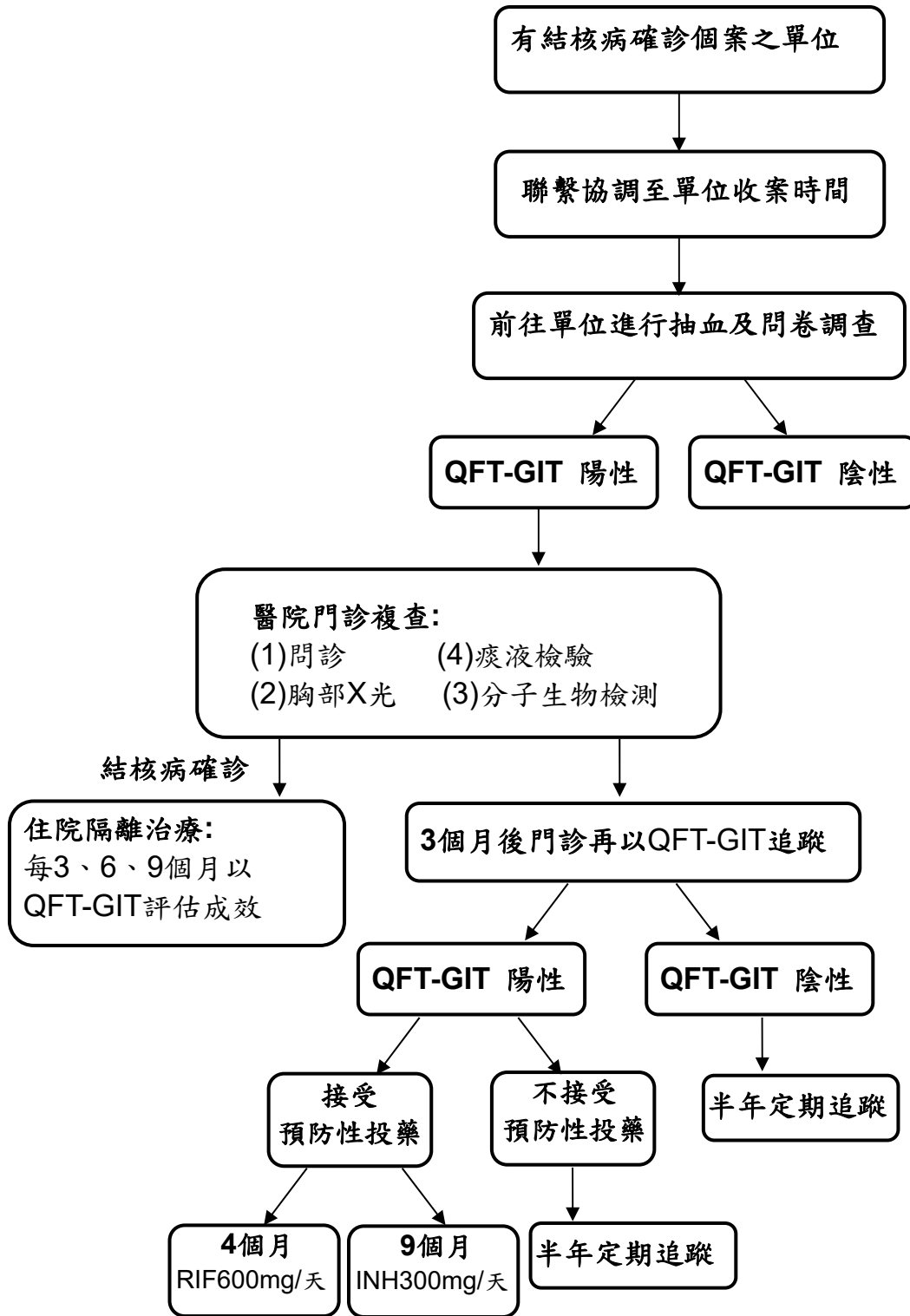
記錄: 1 之 1 無篩選條件 搜尋

免疫檢測-病歷號 免疫檢測-身分證字號 結核菌學 使用藥物 不良事件

Kit	Sample_Date	Status	Name	Sample	Nurse	PI	Result_s

記錄: 無篩選條件 搜尋

圖三、研究收案流程圖



圖一、收案流程圖

表一、104 位家庭接觸者的臨床基本資料表

	QFT-positive (n = 39)	QFT-negative (n = 130)
Age: mean ± SD	46.7 ± 21.3	41.2 ± 17.1
Male	16 (41.0%)	50 (38.5%)
Body-mass index: mean ± SD	23.6 ± 3.3	22.4 ± 3.6
Current smoker	3 (7.7%)	16 (12.3%)
Exposure gradient*		
Same room	11 (28.2%)	16 (12.3%)
Same house	23 (59.0%)	76 (58.5%)
Different house	5 (12.8%)	38 (29.2%)
Husband/wife/direct relative	24 (61.5%)	89 (68.5%)
Index case smear-positive	20 (51.3%)	55 (42.3%)

Data are number (%) unless otherwise described.

* $p = 0.049$

表二、QFT-GIT 與 TST 檢測結果的相關性

	TST-negative (n = 72)	TST-positive (n = 97)
QFT-negative (n = 130)	67 (39.7% of 169)	63 (37.2% of 169)
QFT-positive (n = 39)	5 (3.0% of 169)	34 (20.1% of 169)

表三、TST(+)QFT(+)、TST(-)QFT(+)、以及 TST(+)QFT(-)這三組接觸者的臨床特徵

	TST(+)QFT(+) (n = 34)	TST(-)QFT(+) (n = 5)	TST(+)QFT(-) (n = 63)
Age: mean	46.3	49.9	42.2
Male	13 (38.2%)	3 (60.0%)	27 (42.9%)
Body-mass index: mean	23.3	24.0	22.4
Current smoker	3 (8.8%)	1 (20.0%)	8 (12.7%)
Exposure gradient			
Same room	10 (29.4%)	1 (20.0%)	8 (12.7%)
Same house	21 (61.8%)	2 (40.0%)	38 (60.3%)
Different house	3 (8.8%)	2 (40.0%)	17 (27.0%)
Husband/wife/direct relative	21 (61.8%)	3 (60.0%)	44 (69.8%)
Index case smear-positive	16 (47.1%)	2 (40.0%)	22 (34.9%)

Data are number (%) unless otherwise described.

表四、57 位潛伏結核感染之接觸者不參加預防性治療的原因

	N = 95
不認為自己會被結核菌感染	7 (7%)
不認為自己會發病	66 (69%)
沒有時間	44 (46%)
就醫不便	58 (61%)
害怕藥物副作用	55 (58%)
其他：例如、沒有足夠的補助	30 (32%)

Data are number (%).

表五、七位家庭接觸者的臨床基本資料

	Isoniazid (n = 5)	Rifampin (n = 2)
Age: mean	40.4	29.0
Male	3 (60%)	0 (0%)
Body-mass index: mean	23.4	21.1
Current smoker	0 (0%)	0 (0%)
Alcoholism	0 (0%)	0 (0%)
Exposure gradient*		
Same room	2 (40%)	1 (50%)
Same house	2 (40%)	1 (50%)
Different house	1 (40%)	0 (0%)
Husband/wife/direct relative	0 (0%)	0 (0%)
Index case smear-positive	2 (40%)	0 (0%)
Adverse effect	3 (60%)	0 (0%)

Data are number (%) unless otherwise described.

表六、血液透析病人臨床資料

	QFT-positive (n = 62)	QFT-negative (n = 181)
Age [#]	65.2 ± 10.9	61.1 ± 15.2
Male	44 (71%)	99 (55%)
Current smoker	7 (11%)	14 (8%)
Comorbidity	21 (34%)	80 (44%)
Old tuberculosis*	7 (11%)	5 (3%)
Albumin	4.0 ± 0.3	3.9 ± 0.4
WBC	6630 ± 2094	6957 ± 4180

* $p < 0.05$

$0.05 < p < 0.10$

表七、研究對象基本人口學變項

變項名稱	QFT-GIT 陽性				QFT-GIT 陰性				p value
	n	Mean±SD (%)			n	Mean±SD (%)			
年齡	118	37.02	±	19.12	236	35.37	±	18.43	0.4341
身高	118	166.7	±	7.08	236	165.4	±	10.46	0.1773
體重	118	63.71	±	15.57	237	63.31	±	13.84	0.8059
身體質量指數	118	22.83	±	5.03	236	22.98	±	3.91	0.8642
性別									0.6290
男性	83	(70.34)			160	(67.51)			
女性	35	(29.66)			77	(32.49)			
教育程度									0.4405
研究所	5	(7.04)			16	(9.47)			
大學	46	(64.79)			88	(52.07)			
專科	2	(2.82)			10	(5.92)			
高中職以下	14	(19.72)			44	(26.04)			
國(初中)以下	4	(5.63)			11	(6.51)			
婚姻狀況									0.0394*
單身	104	(90.43)			188	(81.74)			
已婚	11	(9.57)			42	(18.26)			
單位									0.0023*
家庭接觸者	4	(3.36)			24	(9.96)			
長照機構	47	(39.5)			68	(28.22)			
學校	57	(47.9)			102	(42.32)			
24小時群聚團體	11	(9.24)			47	(19.5)			
接觸過的結核病患數	114	2.49	±	1.84	212	1.58	±	1.13	<0.0001*

a：連續變項使用 t 檢定；類別變項使用卡方檢定

*：p value < 0.05

表八、研究對象居住環境變項

變項名稱	QFT-GIT 陽性		QFT-GIT 陰性		p value
	n	Mean±SD (%)	n	Mean±SD (%)	
家中坪數	70	23.11 ± 17.44	163	24.06 ± 17.66	0.7092
與人同住					0.0863
否	13	(18.57)	17	(10.06)	
是	57	(81.43)	152	(89.94)	
有親密伴侶					0.8869
否	40	(56.34)	91	(54.49)	
是	31	(43.66)	76	(45.51)	
通風不良					0.1118
否	9	(12.86)	10	(5.95)	
是	61	(87.14)	158	(94.05)	
冷氣使用情形					0.3891
使用冷氣	39	(57.35)	85	(50.6)	
不使用冷氣或 沒有冷氣	29	(42.65)	83	(49.4)	
使用空氣清淨機					1.0000
否	61	(91.04)	143	(89.94)	
是	6	(8.96)	16	(10.06)	

a：類別變項使用卡方檢定；*：p value < 0.05

表九、研究對象工作或學校環境變項

變項名稱	QFT-GIT 陽性			QFT-GIT 陰性			p value
	n	Mean±SD (%)		n	Mean±SD (%)		
一週上班/上課天數	69	4.57	± 0.92	164	5.05	± 1.05	0.0009*
每日上班/上課時數	66	7.93	± 4.14	162	9.02	± 4.51	0.0926
輪班							1.0000
否	60	(84.51)		137	(84.05)		
是	11	(15.49)		26	(15.95)		
辦公室型式							0.0629
室內個人	1	(1.43)		11	(6.67)		
與人共用	69	(98.57)		154	(93.33)		
辦公室坪數							0.8604
10 坪(含)以下	15	(23.44)		34	(22.37)		
10 坪以上	49	(76.56)		118	(77.63)		
辦公室空調使用狀況							0.0079*
使用冷氣	55	(84.62)		101	(66.45)		
不使用冷氣或沒有冷氣	10	(15.38)		51	(33.55)		
辦公室通風不良							0.0270*
否	54	(84.38)		105	(69.54)		
是	10	(15.63)		46	(30.46)		
辦公室使用空氣清淨機							1.0000
否	62	(95.38)		147	(96.08)		
是	3	(4.62)		6	(3.92)		

a：連續變項使用 t 檢定；類別變項使用卡方檢定

*：p value < 0.05

表十、研究對象生活型態變項

變項名稱	QFT-GIT 陽性		QFT-GIT 陰性		p value
	n	(%)	n	(%)	
抽菸習慣					0.0185*
從來不抽	67	(56.78)	141	(59.75)	
以前抽	40	(33.9)	53	(22.46)	
目前仍有抽菸	11	(9.32)	42	(17.8)	
二手菸暴露史					0.3034
否	65	(55.08)	144	(61.02)	
是	53	(44.92)	92	(38.98)	
飲酒習慣					0.6541
從來不喝或很少喝	102	(86.44)	195	(82.63)	
以前喝	4	(3.39)	10	(4.24)	
目前仍有飲酒	12	(10.17)	31	(13.14)	
運動習慣					0.2707
無	11	(15.71)	17	(10.18)	
每月 1~3 次	20	(28.57)	43	(25.75)	
每週 1~2 次	24	(34.29)	49	(29.34)	
每週 3~4 次	9	(12.86)	28	(16.77)	
幾乎每天	6	(8.57)	30	(17.92)	
半年內去電影院					0.0060*
無	10	(14.08)	53	(31.74)	
有	61	(85.92)	114	(68.26)	
半年內去 KTV					<0.0001*
無	17	(23.94)	80	(47.90)	
有	54	(76.06)	87	(52.10)	
半年內去 PUB					0.2422
無	51	(71.83)	132	(79.04)	
有	20	(28.17)	35	(20.96)	
半年內去健身中心					0.8574
無	57	(80.28)	136	(81.44)	
有	14	(19.72)	31	(18.56)	
半年內去網咖					0.6464
無	48	(67.61)	118	(70.66)	
有	23	(32.39)	49	(29.34)	

a：類別變項使用卡方檢定；*：p value < 0.05

表十一、Quanti-FERON®-TB Gold In-Tube 陽性之危險因子

變項名稱	adjusted		
	OR	95%CI	<i>p</i> value
接觸過的結核病患數	1.72	(1.43-2.07)	<0.0001*
抽菸習慣(有 vs. 無)	2.41	(1.36-4.26)	0.0025*

a：邏輯斯迴歸採用 Stepwise 方式；*：*p* value < 0.05

b：校正變項：婚姻、收案單位。

衛生署結核病防治計劃

『高危險結核病及密切接觸者資料建立：進而追蹤及治療評估潛伏結核感染』

※本調查共分四大部分，包括(1)基本資料(2)居家環境(3)工作或學校環境(4)生活型態，請依序作答。

※作答方式：

1. 如遇畫有底線_____者，請將回答之訊息填在上面。
2. 如遇有者，請勾選適當者。
3. 以下是關於您的資料，請依據題意填寫。

第一部分 基本資料

1. 性別：男 女
2. 出生日期：民國_____年_____月_____日
3. 現居住地：_____縣市_____區/鄉/鎮
戶籍地：_____縣市_____區/鄉/鎮
4. 請問您身高_____公分，體重_____公斤
5. 請問您最高教育程度為：
研究所 大學 專科 高中(職) 國(初)中以下
畢(肄)業學校_____
6. 婚姻狀況：
單身《請跳至第8題》 已婚 離婚 鰥寡 其他_____
7. 小孩個數：零個 一個 二個 三個(含)以上
8. 請問您是否曾經由醫師診斷罹患過結核病？
否
是
↳ 8-1 診斷日期：民國_____年_____月
8-3. 是否已經治癒？是，在民國_____年痊癒 否

第二部份 居家環境

1. 請問您目前是否與人同戶居住？

① 否 《請跳至第 3 題》

② 是 → 與您的關係為？ ① 家人 ② 同事 ③ 同學 ④ 朋友

2. 請問您的家中最近三個月內是否有人發生咳嗽症狀？

① 否 《請跳至第 3 題》

② 是 → 咳嗽現象是否超過 3 星期？ ① 是 ② 否

3. 請問您目前居住的地方約為幾坪？_____坪；(兩個榻榻米 = 1 坪)

4. 請問您的室內環境是否陰暗、密不通風？ ① 是 ② 否

5. 請問最近三個月內您家中的空調狀況為何？

① 使用中央空調系統 ② 使用窗型或分離式冷氣

③ 平常不開冷氣，但窗戶保持常開 《請跳至第 7 題》

④ 平常不開冷氣，且窗戶沒有打開 《請跳至第 7 題》

⑤ 家中無冷氣設備 《請跳至第 7 題》

6. 請問您家中的冷氣是否有定期清洗或更換濾網？ ① 是 ② 否

7. 請問您的家中是否有使用空氣清淨機？

① 否

② 是

└─ 7-1 使用空氣清淨機的頻率(天數)為何？

① 幾乎每天 ② 一週 4 至 6 天 ③ 一週 2 至 3 天 ④ 一週一天

7-2 每次使用空氣清淨機的時間約多久？_____小時

7-3 空氣清淨機的濾網是否定期更換？ ① 是 ② 否

第三部份 工作或學校環境

1. 請問您目前平均每週工作_____天，每天工作_____小時
2. 請問您的工作是否為輪班性質？①是 ②否
3. 請問您目前的工作場所(辦公室或教室)為何？
①室內個人辦公室 ②室內與人共用的空間 ③室外的開放空間
④室內與室外的空間皆有
4. 請問您的工作場所空間有多大？(兩個榻榻米= 一坪)
①5 坪(含)以下 ②5 坪以上 10 坪(含)以下
③10 坪以上 15 坪(含)以下 ④15 坪以上
5. 請問最近三個月內您的工作場所空調狀況為何？
①使用中央空調系統 ②使用窗型或分離式冷氣
③平常不開冷氣，但窗戶保持常開《請跳至第 7 題》
④平常不開冷氣，且窗戶沒有打開《請跳至第 7 題》
⑤家中無冷氣設備《請跳至第 7 題》
6. 請問您工作場所的冷氣是否有定期清洗或更換濾網？
①是 ②不知道 ③否
7. 請問您是否覺得辦公室的通風不良？①是 ②否
8. 請問您的辦公室中是否有使用空氣清淨機？
①否
②是
 └─ 8-1 使用空氣清淨機的頻率(天數)為何？
 ①幾乎每天 ②一週 4 至 6 天
 ③一週 2 至 3 天 ④一週一天
 8-2 每次使用空氣清淨機的時間約多久？_____小時
 8-3 空氣清淨機的濾網是否定期更換？①是 ②不知道 ③否

第四部分 生活型態

1. 請問您是否有親密伴侶(男女朋友、夫妻)?

① 否 《請跳至第 3 題》 ② 是

2. 請問您與親密伴侶最近三個月內是否曾共同居住? ① 否 ② 是

3. 請問您是否有抽菸習慣?

① 從來不抽

② 以前抽，現在不抽

③ 目前仍有抽菸

4. 請問您在家中或工作場所中是否有二手菸暴露?

① 否 ② 是

5. 請問您是否有飲酒習慣?

① 從來不喝或很少喝

② 以前喝，現在不喝

③ 目前仍有飲酒

6. 您平時是否有運動的習慣?

① 沒有 (每月少於 1 次) ② 每月 1-3 次 ③ 每週 1-2 次

④ 每週 3-4 次 ⑤ 幾乎天天

7. 請問您過去 6 個月至下列休閒場所之頻率為何?

休閒場所	①從未去過	②<1次/每月	③1-3次/每月	④>4次/每月
電影院	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
KTV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
PUB	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
健身中心	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
網咖	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
其他_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

填答完畢，請再次檢查有無遺漏之項目，
感謝您提供寶貴意見。

子計畫編號：3-2

子計畫名稱：結核病高危險族群，包括醫護人員、愛滋病毒感染病患、慢性呼吸衰竭病患、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物（anti-tumor necrosis factor blockade）治療之自體免疫疾病患者、血液及腹膜透析病人、長期照護機構、第二型糖尿病患者、以及肺癌病人之潛伏結核感染追蹤調查

主持人：王振泰

研究目的

利用丙型干擾素釋放試劑，針對結核病高危險族群進行追蹤測試。所謂高危險族群包括醫護人員、愛滋病患、透析治療病患、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療之自體免疫疾病患者、接受化學治療之肺癌患者；糖尿病患者、呼吸衰竭患者、以及長期照顧機構之住民。

1. 了解結核病高危險族群中丙型干擾素釋放試劑測驗呈陽性之橫斷面盛行率，並分析相關因子。
2. 對於陰性反應之個案，定期丙型干擾素釋放試劑追蹤檢測，探討檢測結果陽性之發生率，並分析危險因子及血液發炎指標。
3. 對於檢測結果呈陽性的個案，無論其是否接受 latent TB 之治療，前瞻性追蹤其發生結核病的發生率。
4. 潛伏結核感染篩檢的成本效益。

二、研究方法

1. 設計：多醫院之前瞻性世代研究
2. 機構：台大醫院、亞東紀念醫院、雙和醫院、台北榮民總醫院、台中榮民總醫院、桃園壠新醫院
3. 對象：結核病高危險族群，包括醫護人員、愛滋病患、透析治療患者、接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療之自體免疫疾病患者、接受化學治療之肺癌患者、糖尿病患者、呼吸衰竭患者、以及長期照護機構之住民

三、流程

1. 胸部 X 光及驗痰(必要時)排除活動性結核病
2. 免疫檢測(丙型干擾素釋放試劑)
 - i. 進行免疫檢測並收集相關資料
 - ii. 分析檢測結果呈陽性的相關因子
 - iii. 檢測結果為陰性者，每半年追蹤檢測一次，並測量血液發炎物質，以估算免疫檢測陽轉之發生率及危險因子
 - iv. 對於檢測結果呈陽性的個案，無論其是否接受 latent TB 之治療，前瞻性追蹤其發生結核病的發生率。

四、重要結果

本整合型計劃至 100 年 12 月止共計收案 1786 人(原先預計 1470 人)，已符合預期目標。重要成果如下表所列，共有 345 名受試者之丙型干擾素釋放試劑檢測呈陽性；而截至目前為止，這 345 名受試者中，並沒有被發現出現活動性結核病的人。

計畫編號	收案對象	收案人數	IGRA 陽性	在研究期間內出現活動性結核病
3-2-1	愛滋病毒感染病患	210	18 (8.57%)	0
3-2-2	慢性呼吸衰竭病患	115	19 (16.52%)	0
3-2-3	接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療之自體免疫患者	167	19 (11.38%)	0
3-2-4	血液及腹膜透析病人	234	42 (17.95%)	0
3-2-5	第二型糖尿病患者	342	101 (29.53%)	0
3-2-6	北台灣呼吸照護病房之住民與工作人員	162	34 (20.99%)	0
3-2-7	長期照護機構與榮民之家	301	76 (25.25%)	0
3-2-8	使用抗癌藥物治療前之肺癌病人	79	24 (34.78%) 註一	0
3-2-9	醫護人員	176	12 (6.82%)	0
total		1786	345 (19.32%)	0

註一：79 位收案者中，撰寫報告時有 69 人有 IGRA 檢測結果

五、討論與建議

由本研究計畫之橫斷面篩檢發現，丙型干擾素釋放試劑檢測陽性率較高的族群為在呼吸照護中心及呼吸照護病房的住民與工作人員、肺癌患者、糖尿病患者以及慢性腎衰竭接受透析治療的病患。而最低的則是急性照護醫院的工作人員。

從這樣的結果來看，推測我國未來結核病防治的另一工作重點在於罹患慢性肺病之患者與照護其之醫護人員應是合理的。

另外，由於目前追蹤的時間過短，在 345 位丙型干擾素釋放試劑檢測呈陽性的受試者中，並沒有任何一人出現 active tuberculosis 之症狀。在推展 LTBI 治療的時空背景下，其實這一方面的流行病學資料是十分重要的。倘若這 345 受試者在後續之追蹤中，並沒有人或是很低比例的人出現 active TB，那末利用丙型干擾素釋放試劑檢測 latent TB 並以遂行 latent TB 治療的政策，可能就需要再行審慎考慮。因此，研究者呼籲應將這樣的研究計畫至少連續進行三年，才能有較好的結論。

分項計畫 1： 結核病高危險族群-HIV 病毒感染者之潛伏感染治療照顧準則與方案

摘要

自西元 2011 年三月至十二月,共招募 210 位 HIV 病毒感染者; 其年紀平均數為 36 歲(SD 12, 範圍為 19-77 歲), CD4 平均數為 360 cells/uL (SD 267, 範圍為 3-1489 cells/uL), 病毒量平均數為 3.39 log copies/mL (SD 1.54, 範圍為 1.60-6.99 log copies/mL); 有 116 位(55.2%)接受高效能抗病毒藥物治療。

210 位病毒感染者包括 20 位為僅有肺囊蟲肺炎, 8 位為細菌性肺炎, 1 位為肺囊蟲肺炎合併隱球菌菌血症, 1 位為肺囊蟲肺炎合併結核菌感染, 1 位為肺囊蟲肺炎合併禽結核分枝桿菌感染, 1 位為肺囊蟲肺炎合併巨細胞病毒肺炎合併肺麴黴菌感染, 2 位為肺囊蟲肺炎合併巨細胞病毒肺炎, 1 位為肺囊蟲肺炎合併巨細胞病毒腦室炎, 1 位肺積水, 1 位腳部蜂窩性組織炎, 2 位病患僅有肺結核, 1 位為頸部 MAC 淋巴結腫, 1 位為肺部淋巴瘤, 39 位為剛診斷 HIV 病毒感染病患(22 位 CD4 值小於 200 cells/uL), 2 位沙門式桿菌感染. 210 位病患中有 55 位(26.2%)接受結核菌檢查 (包括抹片及培養), 其中 51 位抹片檢查陰性, 4 位抹片檢查陽性, 26 位已有培養結果, 包括 18 位培養陰性, 4 位為禽結核分枝桿菌, 1 位為 *Mycobacterium kansasii*, 3 位為 *Mycobacterium tuberculosis*. 沒有接受結核菌檢查者, 皆無結核菌感染相關症狀。

210 位病患中有 7 位 ELISPOT 結果無法判讀 (indeterminate, 其 CD4 counts 分別為 36, 214, 302, 282, 430, 706, 934 cells/ μ L). 有 18 位 ELISPOT 陽性, 其中 3 位為活動性肺結核 (active pulmonary TB) 病患 (2 位痰液結核菌抹片檢查陽性, 3 位痰液結核菌培養陽性, CD4 分別為 204, 78 及 28 cells/uL). 1 位為過去有結核淋巴結腫(CD4 449 cells/uL). 14 位為過去無結核菌史, 臨床亦無症狀, 表示潛伏性結核菌感染在 HIV 病毒感染者的比例約 6.8% [(18-3-1)/(210-3-1)=14/206] 。

研究目標

國內近年來在政府全力支持結核病治療的努力下,已有成果;本研究欲針對結核病高危險族群,如愛滋病毒感染病患,以 T-SPOT.TB 檢驗結果,評估是否有活動性結核病或潛伏結核感染的可能.若病患為潛伏結核感染,配合疾病管制局的建議,與病患討論潛伏結核感染治療;不論病患是否同意接受潛伏結核感染治療,皆進行長期追蹤 3-5 年,觀察是否有活動性結核病產生,及 T-SPOT.TB 在同一個體隨時間或病患免疫力改變的變化.此外,因免疫不全患者臨床結核病表現亦異於一般表現,本研究亦欲藉由 T-SPOT.TB 檢驗結果,評估早期偵測出活動性結核病的效果。

納入條件與潛伏收案人數：

潛伏收案對象：

1. 愛滋病毒感染病患(目前在台大醫院門診定期追蹤患者約 1200 人)
2. 器官移植患者在移植前評估時及術後之追蹤(每年器官移植病患約 100 人)

前言

不論是在罹患愛滋病毒感染或無愛滋病毒感染的族群中,不少研究證實潛伏結核感染治療可有效減少日後發病的機會.根據後設分析(meta-analysis),在 11 個隨機對照試驗(randomized controlled trials)包括 73,375 位無愛滋病毒感染者,潛伏結核感染治療後追蹤兩年或更久,其發生活動性結核病之相對危險性(relative risk, RR)為 0.40(95%信賴區間 0.31-0.52)(15); 在 12 個隨機對照試驗包括 8,578 位愛滋病毒感染者,潛伏結核感染治療後,其發生活動性結核病之相對危險性(relative risk, RR)為 0.68(95%信賴區間 0.54-0.85);此保護性在皮膚結核菌素測驗陽性者效果更好(RR 0.38, 95%信賴區間 0.25-0.57)(2).這些隨機對照試驗亦包含在結核病盛行率較高之地區進行之隨機對照試驗,如非洲國家,菲律賓,巴西,西班牙,香港等(2, 15).

皮膚結核菌素測驗多年來一直為診斷潛伏結核感染的唯一工具,但其結果會受卡介苗施打或暴露過非結核分枝桿菌影響(non-tuberculosis *Mycobacterium*),故皮膚結核菌素測驗是否可正確偵測出潛伏結核感染有其限制;再者,皮膚結核菌素測驗從施打到判讀需兩次就診(相隔 48-72 小時),在皮膚結核菌素施打後,病患易因其他因素(如工作或假日不看診),無法在預定時間內回診判讀施打結果;此外,皮膚結核菌素施打結果判讀不易,不同人員判讀結果可能會有差異.最後,在免疫不良的族群中,皮膚結核菌素測驗的敏感性亦受到影響.

近年來 Interferon Gamma Release Assay(IGRA)為一新發展出診斷潛伏結核感染的檢驗.其檢驗結果不會因卡介苗接種或曾暴露過非結核分枝桿菌而受到影響.目前 IGRA 包括 QuantiFERON-TB (QFT)及 T-SPOT.TB 兩種試劑. QFT 根據實驗技術的改善,又再分為 QuantiFERON-TB Gold test(QFT-G) 及 QuantiFERON-TB Gold In-Tube test(QFT-GIT).根據後設分析, T-SPOT.TB 診斷潛伏結核感染的敏感性(sensitivity)(90%, 95%信賴區間 86%-93%)優於 QFT(78%, 95%信賴區間 73%-82% in QFT-Gold; 70%, 95%信賴區間 63%-78% in QFT-Gold In-Tube)及皮膚結核菌素測驗(77%, 95%信賴區間 71%-82%);在施打卡介苗地區,診斷潛伏結核感染的特異性 T-SPOT.TB(93%, 95%信賴區間 86%-100%)及 QFT(96%, 95%信賴區間 94%-98%)皆優於及皮膚結核菌素測驗(59%, 95%信賴區間 46%-73%)(13)。

西元 2005 年十二月,美國疾病管制局公佈 QFT-G 適用於皮膚結核菌素測驗的使用適應症,此包括結核菌暴露者感染調查,對曾接受卡介苗接種者或在醫院工作者,長期追蹤評估其是否有感染結核菌(11)。美國疾病管制局甚至建議用 IGRA 取代皮膚結核菌素測驗(11)。在西元 2010 年美國疾病管制局根據近年來 IGRA 研究更新的公佈中,再次建議將 IGRA 用於診斷結核病的工具,包括潛伏結核感染及活動性結核病(12);除 QFT-G 外,亦將後來通過 FDA 核准的 QFT-GIT 及 T-SPOT.TB 加入(12)。

雖然 IGRA 單價遠高於皮膚結核菌素測驗,但目前已有不少研究顯示,相較於皮膚結核菌素測驗,因 IGRA 可更有效偵測出潛伏結核感染,故其 cost effectiveness 優於皮膚結核菌素測驗(3, 5, 7). 根據國內研究,洗腎患者中,相較於皮膚結核菌素測驗,IGRA 和國人發生活動性結核病的危險因子及過去有活動性結核病病史的關聯較強(9, 10). 此外,國人移植前評估患者(7%)及洗腎患者(18.8%)之 IGRA 的 indeterminate rate(即因免疫力低下導致對結核菌素刺激無反應)亦低於皮膚結核菌素測之 anergy rate (22.6%-40%)(6, 9, 14, 16, 18).

目前在免疫不全患者中,IGRA 結果是否可正確預測未來活動性結核病之發生(1, 4),高效能抗病毒藥物合併潛伏結核感染治療對 HIV 病毒感染病患的保護效果(8),IGRA 在同一個體長期追蹤變化(17),甚至在病患免疫力改變後之變化的研究仍少。

材料與方法

1. 適合本研究之 HIV 病毒感染病患在同意加入研究後,先抽血檢驗 T-SPOT.TB,看是否有潛伏結核感染
 - (1) 若第一次 T-SPOT.TB 結果為陽性,或追蹤之 T-SPOT.TB 結果由陰轉陽性
 - a. 進行完整活動性結核病評估,包括病史,身體理學檢查,基本生化檢查,三套結核菌痰液培養,及胸部 X 光等;若評估結果非活動性結核病,則建議病患進行潛伏結核感染治療;若病患同意,則給予 isoniazid 九個月治療; ELISPOT 陽性病患不論是否接受潛伏結核感染治療,皆進行長期追蹤 3-5 年,且每年抽血檢驗 ELISPOT 一次,觀察是否有活動性結核病產生,及 ELISPOT;
 - b. 若 HIV 病毒感染病患在第一次檢測 T-SPOT.TB 時,尚未使用高效能抗病毒藥物或 CD4 小於 200 cells/ μ L,則在使用高效能抗病毒藥物六個月後或當 CD4 大於 200 cells/ μ L,再檢驗一次 T-SPOT.TB
 - (2) 若 T-SPOT.TB 結果為陰性
 - a. 進行長期追蹤 3-5 年,觀察是否有活動性結核病產生,且每年抽血檢驗 ELISPOT 一次.
 - b. 若 HIV 病毒感染病患在第一次檢測 T-SPOT.TB 時,尚未使用高效能抗病毒藥物或 CD4 小於 200 cells/ μ L,則在使用高效能抗病毒藥物六個月後或當 CD4 大於 200 cells/ μ L,再檢驗一次 T-SPOT.TB

結果

自西元 2011 年三月至十二月,共招募 210 位 HIV 病毒感染者;其年紀平均數為 36 歲(SD 12, 範圍為 19-77 歲), CD4 平均數為 360 cells/uL (SD 267, 範圍為 3-1489 cells/uL),病毒量平均數為 3.39 log copies/mL (SD 1.54,範圍為 1.60-6.99 log copies/mL);有 116 位(55.2%)接受高效能抗病毒藥物治療。

210 位病毒感染者包括 20 位為僅有肺囊蟲肺炎, 8 位為細菌性肺炎, 1 位為肺囊蟲肺炎合併隱球菌菌血症, 1 位為肺囊蟲肺炎合併結核菌感染, 1 位為肺囊蟲肺炎合併禽結核分枝桿菌感染, 1 位為肺囊蟲肺炎合併巨細胞病毒肺炎合併肺麴黴菌感染, 2 位為肺囊蟲肺炎合併巨細胞病毒肺炎, 1 位為肺囊蟲肺炎合併巨細胞病毒腦室炎, 1 位肺積水, 1 位腳部蜂窩性組織炎, 2 位病患僅有肺結核, 1 位為頸部 MAC 淋巴結腫, 1 位為肺部淋巴瘤, 39 位為剛診斷 HIV 病毒感染病患(22 位 CD4 值小於 200 cells/uL), 2 位沙門式桿菌感染。210 位病患中有 55 位 (26.2%)接受結核菌檢查 (包括抹片及培養), 其中 51 位抹片檢查陰性, 4 位抹片檢查陽性, 26 位已有培養結果, 包括 18 位培養陰性, 4 位為禽結核分枝桿菌, 1 位為 *Mycobacterium kansasii*, 3 位為 *Mycobacterium tuberculosis*. 沒有接受結核菌檢查者,皆無結核菌感染相關症狀。

210 位病患中有 7 位 ELISPOT 結果無法判讀 (indeterminate, 其 CD4 counts 分別為 36, 214, 302, 282, 430, 706, 934 cells/ μ L).有 18 位 ELISPOT 陽性, 其中 3 位為活動性肺結核 (active pulmonary TB) 病患 (2 位痰液結核菌抹片檢查陽性, 3 位痰液結核菌培養陽性, CD4 分別為 204, 78 及 28 cells/uL). 1 位為過去有結核淋巴結腫(CD4 449 cells/uL). 14 位為過去無結核菌史,臨床亦無症狀,表示潛伏性結核菌感染在 HIV 病毒感染者的比例約 6.8% $[(18-3-1)/(210-3-1)=14/206]$ 。

討論

可能因為本研究的病人群較年輕(平均年齡為 36 歲), 其潛伏性結核菌感染比例僅約 6.8%,低於其他感染結核病危險族群[如國人移植前評估患者(21%)(平均年齡為 48 歲)及洗腎患者(平均年齡為 58 歲) (34.4%)] (9, 18)。因國內結核病發生率仍偏高, 是否 ELISPOT 陽性者有較高的可能發展成結核病, 是否預防藥物的投予對潛伏性結核菌感染可降低潛伏性結核菌感染發展成結核病, 值得繼續追蹤, 以對國內未來 HIV 病毒感染病患的潛伏性結核菌感染預防藥物政策提出具體建議。

結論與建議

潛伏性結核菌感染在 210 位平均年齡為 36 歲的 HIV 病毒感染病患的比例約 6.8%。14 位 ELISPOT 陽性且非結核菌感染病患因目前健康狀況良好，對接受潛伏性結核菌感染預防藥物投予的意願不高 (0%)。國內結核病發生率仍偏高，表示病患仍有可能自外界感染結核病，是否 ELISPOT 陰性且非結核菌感染病患在接下來的追蹤中有很高比例陽轉，是否 ELISPOT 陽性且非結核菌感染病患在接下來的追蹤中有較大的機會發展成結核病，值得加以追蹤，以對國內未來潛伏性結核菌感染預防藥物政策提出具體建議。

計畫重要研究成果及對國家政策之具體建議

1. 本計畫之新發現或新發明

潛伏性結核菌感染在 210 位平均年齡為 36 歲的 HIV 病毒感染病患的比例約 6.8%。

2. 本計畫對民眾具教育宣導之成果

無。

3. 本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

- 14 位 ELISPOT 陽性且非結核菌感染病患因目前健康狀況良好，對接受潛伏性結核菌感染預防藥物投予的意願不高 (0%)。
- ELISPOT 對活動性肺結核的敏感性為 100% (3/3)。

參考文獻

1. Aichelburg, M. C., A. Rieger, F. Breitenecker, K. Pfistershammer, J. Tittes, S. Eltz, A. C. Aichelburg, G. Stingl, A. Makristathis, and N. Kohrgruber. 2009. Detection and prediction of active tuberculosis disease by a whole-blood interferon-gamma release assay in HIV-1-infected individuals. *Clin Infect Dis* 48:954-962.
2. Akolo, C., I. Adetifa, S. Shepperd, and J. Volmink. 2010. Treatment of latent tuberculosis infection in HIV infected persons. *Cochrane Database Syst Rev*:CD000171.
3. de Perio, M. A., J. Tsevat, G. A. Roselle, S. M. Kralovic, and M. H. Eckman. 2009. Cost-effectiveness of interferon gamma release assays vs tuberculin skin tests in health care workers. *Arch Intern Med* 169:179-187.
4. Dheda, K., R. van Zyl Smit, M. Badri, and M. Pai. 2009. T-cell interferon-gamma release assays for the rapid immunodiagnosis of tuberculosis: clinical utility in high-burden vs. low-burden settings. *Curr Opin Pulm Med* 15:188-200.
5. Diel, R., P. Wrighton-Smith, and J. P. Zellweger. 2007. Cost-effectiveness of interferon-gamma release assay testing for the treatment of latent tuberculosis. *Eur Respir J* 30:321-332.
6. Fang, H. C., K. J. Chou, C. L. Chen, P. T. Lee, Y. H. Chiou, S. Y. Hung, and H. M. Chung. 2002. Tuberculin skin test and anergy in dialysis patients of a tuberculosis-endemic area. *Nephron* 91:682-687.
7. Kowada, A., O. Takahashi, T. Shimbo, S. Ohde, Y. Tokuda, and T. Fukui. 2008. Cost effectiveness of interferon-gamma release assay for tuberculosis contact screening in Japan. *Mol Diagn Ther* 12:235-251.
8. Lawn, S. D., R. Wood, K. M. De Cock, K. Kranzer, J. J. Lewis, and G. J. Churchyard. 2010. Antiretrovirals and isoniazid preventive therapy in the prevention of HIV-associated tuberculosis in settings with limited health-care resources. *Lancet Infect Dis* 10:489-498.
9. Lee, S. S., K. J. Chou, H. Y. Dou, T. S. Huang, Y. Y. Ni, H. C. Fang, H. C. Tsai, C. L. Sy, J. K. Chen, K. S. Wu, Y. H. Wang, H. H. Lin, and Y. S. Chen. 2010. High prevalence of latent tuberculosis infection in dialysis patients using the interferon-gamma release assay and tuberculin skin test. *Clin J Am Soc Nephrol* 5:1451-1457.
10. Lee, S. S., K. J. Chou, I. J. Su, Y. S. Chen, H. C. Fang, T. S. Huang, H. C. Tsai, S. R. Wann, H. H. Lin, and Y. C. Liu. 2009. High prevalence of latent tuberculosis infection in patients in end-stage renal disease on hemodialysis: Comparison of QuantiFERON-TB GOLD, ELISPOT, and tuberculin skin test. *Infection* 37:96-102.
11. Mazurek, G. H., J. Jereb, P. Lobue, M. F. Iademarco, B. Metchock, and A. Vernon. 2005. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. *MMWR Recomm Rep* 54:49-55.
12. Mazurek, M., J. Jereb, A. Vernon, P. LoBue, S. Goldberg, and K. Castro. 2010. Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep* 59:1-25.
13. Pai, M., A. Zwerling, and D. Menzies. 2008. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med* 149:177-184.
14. Shankar, M. S., A. N. Aravindan, P. M. Sohal, H. S. Kohli, K. Sud, K. L. Gupta, V. Sakhuja, and V. Jha. 2005. The prevalence of tuberculin sensitivity and anergy in chronic renal failure in an endemic area: tuberculin test and the risk of post-transplant tuberculosis. *Nephrol Dial Transplant* 20:2720-2724.
15. Smieja, M. J., C. A. Marchetti, D. J. Cook, and F. M. Smaill. 2000. Isoniazid for preventing tuberculosis in non-HIV infected persons. *Cochrane Database Syst Rev*:CD001363.

16. Smirnoff, M., C. Patt, B. Seckler, and J. J. Adler. 1998. Tuberculin and anergy skin testing of patients receiving long-term hemodialysis. *Chest* 113:25-27.
17. van Zyl-Smit, R. N., A. Zwerling, K. Dheda, and M. Pai. 2009. Within-subject variability of interferon-gamma assay results for tuberculosis and boosting effect of tuberculin skin testing: a systematic review. *PLoS One* 4:e8517.
18. Yang, C. J., H. Y. Sun, S. M. Wang, N. K. Chou, M. Yao, S. C. Chang, and N. Singh. 2009. Presented at the 49th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Abstract no. D-1415, San Francisco, CA, September 12-15.

附錄

倫委會案號 201103060RC

國立台灣大學醫學院附設醫院 臨床試驗/研究受試者說明及同意書

(為保護病人權益，請將試驗可能造成受試者危險的警示字句標示出來)

(本書表應由計畫主持人或其指定代理人親自向受試者說明詳細內容，並請受試者經過慎重考慮後方得簽名)

您被邀請參與此臨床試驗/研究，這份表格提供您本試驗/研究之相關資訊，本試驗/研究已取得研究倫理委員會審查通過，研究主持人或其授權人員將會為您說明研究內容並回答您的任何疑問，請您經過慎重考慮後方予簽名。您須簽署同意書後才能參與本試驗/研究。

研究計畫名稱：

中文：結核病高危險族群之潛伏結核感染檢驗

英文：Testing for Latent Tuberculosis Infection in Patients at High Risk for Tuberculosis

執行單位：內科部

委託單位/藥廠：無

主要主持人：洪健清
02-23123456-67552

職稱：主治醫師 電話：

協同主持人：孫幸筠
02-23123456-63557

職稱：主治醫師 電話：

※二十四小時緊急聯絡人：孫幸筠

電話： 0972651122

受試者姓名：

性別： 出生日期：

病歷號碼：

通訊地址：

聯絡電話：

法定代理人、輔助人或有同意權人之姓名：

與受試者關係：

性別： 出生日期：

身份證字號：

通訊地址：

聯絡電話：

一、藥品、醫療技術、醫療器材全球上市現況簡介：

本研究不涉及藥品或醫療技術/器材。在西元2001年前，皮膚結核菌素測驗(TST)一直是診斷曾被結核菌感染的唯一工具；其利用您對注射至的前臂之結核菌抗原反應所產生的硬結大小，來判定您是否感染結核菌；因皮膚結核菌素測驗所使用的抗原亦存在於卡介苗及非結核分枝桿菌中，故檢驗結果會因您曾接種過卡介苗，或曾暴露過非結核分枝桿菌而受到影響。

干擾素 γ 釋放試驗為新研發之診斷結核菌感染的檢驗，包括 QuantiFERON-TB Gold (QFT-G)，QuantiFERON-TB Gold In-Tube test (QFT-GIT)及 T-SPOT.TB。美國食品及藥物管理局[the U.S. Food and Drug Administration (FDA)] 於西元2005年五月認可 QuantiFERON-TB Gold (QFT-G)，於西元2010年六月認可 QuantiFERON-TB Gold In-Tube test (QFT-GIT)及 T-SPOT.TB 為診斷結核潛伏感染及結核病的檢測工具之一。T-SPOT.TB 則是在人體外，利用您的全血和存在結核菌中的抗原反應後，白血球是否對結核菌抗原產生 interferon-gamma (IFN- γ) 的反應，來判斷您是否感染結核菌。因 T-SPOT 所使用的抗原存在於所有的結核菌中，但不包括卡介苗所使用的抗原，亦不包括一般常見的非結核分枝桿菌的抗原，故 T-SPOT.TB 檢驗結果不會因您曾接種過卡介苗，或曾暴露過非結核分枝桿菌而受到影響；和傳統皮膚結核菌素測驗 (TST)相較，T-SPOT.TB 對診斷結核菌感染，可提供更可靠的結果。目前全球已有很多關於 T-SPOT.TB 在診斷結核潛伏感染及結核病的研究報告。

您因(1)為結核病病患或疑似感染結核病病患，或因(2)符合長期接觸結核病病患或疑似感染結核病病患(在病患診斷結核菌感染治療前至少密切接觸40小時以上)，有感染結核病的可能，或(3)為免疫低下之族群(如器官移植者、長期使用類固醇或 tumor necrosis factor-alpha [TNF- α , 如 Humira, etanercept 等]病患和慢性腎衰竭進行洗腎者、愛滋病毒感染患者)，有感染結核病的可能，故欲邀請您參加本研究，接受 T-SPOT.TB 及皮膚結核菌素測驗。

二、試驗目的：

本研究欲了解使用 T-SPOT.TB 和皮膚結核菌素測驗偵測結核菌感染的一致性；並藉由追蹤您在接受測驗後兩年內是否產生結核病，來比較皮膚結核菌素測驗和

T-SPOT 在偵測結核潛伏感染的敏感性，特異性，陽性預測率，和陰性預測率之差異。

三、試驗之主要納入與排除條件：

納入條件，符合下列條件者，適合參加本試驗：

- (1) 年齡大於等於 20 歲，小於等於 120 歲者。
- (2) 結核病病患。
- (3) 疑似感染結核病病患。
- (4) 結核病病患或疑似感染結核病病患之接觸者，定義為結核病病患或疑似感染結核病病患在診斷結核菌感染治療前，和病患至少密切接觸 40 小時以上者。
- (5) 免疫低下之族群(如愛滋病毒感染者、器官移植者、長期使用類固醇或使用 tumor necrosis factor-alpha [TNF- α ，如 Humira, etanercept 等]病患和慢性腎衰竭進行洗腎者)。

排除條件，若有下列情況者，不能參加本試驗：

無。

四、試驗方法及相關檢驗：

您將接受皮膚結核菌素測驗及抽血 5-8cc 進行 T-SPOT，及相關病史的詢問。接受測驗後 3 年將追蹤您是否產生結核病。

五、剩餘檢體處理情形：

體檢測完後剩餘檢體將全數銷毀。

六、可能產生之副作用、發生率及處理方法：

除了抽血時短暫些微的疼痛外，並不會發生額外健康風險。

七、其他替代療法及說明：

不適用。

八、試驗預期效益：

了解使用 T-SPOT 和皮膚結核菌素測驗偵測結核菌感染的一致性；並藉由追蹤受試者接受測驗後兩年內是否產生結核病，來比較皮膚結核菌素測驗和 T-SPOT 在偵測結核潛伏感染的敏感性，特異性，陽性預測率，和陰性預測率之差異。

九、試驗進行中受試者之禁忌、限制與應配合之事項：

無。

十、機密性：

臺大醫院將依法把任何可辨識您的身分之記錄與您的個人隱私資料視為機密來處理，不會公開。如果發表試驗結果，您的身分仍將保密。您亦瞭解若簽署同意書即同意您的原始醫療紀錄可直接受監測者、稽核者、研究倫理委員會及主管機關檢閱，以確保臨床試驗過程與數據符合相關法律及法規要求；上述人員並承諾絕不違反您的身分之機密性。

十一、損害補償與保險：

- (一) 如依本研究所訂臨床試驗計畫，因而發生不良反應或損害，本醫院願意提供專業醫療照顧及醫療諮詢。您不必負擔治療不良反應或傷害之必要醫療費用。
- (二) 除前項補償及醫療照顧外，本研究不提供其他形式之補償。若您不願意接受這樣的風險，請勿參加試驗。
- (三) 您不會因為簽署本同意書，而喪失在法律上的任何權利。

十二、受試者權利：

- (一) 試驗過程中，與您的健康或是疾病有關，可能影響您繼續接受臨床試驗意願的任何重大發現，都將即時提供給您。
- (二) 本試驗已經過本院研究倫理委員會審查，並已獲得核准。本院研究倫理委員會委員由醫事專業人員、法律專家、社會工作人員及其他社會公正人士所組成，每月開會一次，審查內容包含試驗之利益及風險評估、受試者照護及隱私保護等。如果您在試驗過程中對試驗工作性質產生疑問，對身為患者之權利有意見或懷疑因參與研究而受害時，可與本院之研究倫理委員會聯絡請求諮詢，其電話號碼為：(02)2312-3456 轉 63155。
- (三) 為進行試驗工作，您必須接受洪健清或孫幸筠醫師的照顧。如果您現在或於試驗期間有任何問題或狀況，請不必客氣，可與在內科部感染科的孫幸筠醫師聯絡(24小時聯繫電話：0972651122)。
本同意書一式2份，醫師已將同意書副本交給您，並已完整說明本研究之性質與目的。洪健清或孫幸筠醫師已回答您有關藥品與研究的問題。

十三、試驗之退出與中止：

您可自由決定是否參加本試驗；試驗過程中也可隨時撤銷同意，退出試驗，不需任何理由，且不會引起任何不愉快或影響日後醫師對您的醫療照顧。試驗主持人或贊助廠商亦可能於必要時中止該試驗之進行。

十四、簽名

- (一) 主要主持人、協同主持人已詳細解釋有關本研究計畫中上述研究方法的性質與目的，及可能產生的危險與利益。

主要主持人/協同主持人簽名：

日期： 年 月 日

- (二) 受試者已詳細瞭解上述研究方法及其所可能產生的危險與利益，有關本試驗計畫的疑問，業經計畫主持人詳細予以解釋。本人同意接受為臨床試驗計畫的自願受試者。

受試者簽名：

日期： 年 月 日

法定代理人簽名：

日期： 年 月 日

* 受試者為無行為能力(未滿七歲之未成年人者或受監護宣告之人)，由法定代理人為之；受監護宣告之人，由監護人擔任其法定代理人。

* 受試者為限制行為能力者(滿七歲以上之未成年人)，應得其本人及法定代理人之同意。

輔助人或有同意權人簽名：

日期： 年 月 日

* 受試者因精神障礙或其他心智缺陷，致其為意思表示或受意思表示，或辨識其意思表示效果之能力，顯有不足，而受法院之輔助宣告者，應得輔助人之同意。

* 受試者雖非無行為能力或限制行為能力者，但因意識混亂或有精神與智能障礙，而無法進行有效溝通和判斷時，由有同意權之人為之。前項有同意權人為配偶及同居之親屬。

- (三) 見證人：

姓名：

身份證字號：

聯絡電話：

通訊地址：

簽名：

日期： 年 月 日

* 受試者、法定代理人、輔助人或有同意權之人皆無法閱讀時，應由見證人在場參與所有有關受試者同意之討論。並確定受試者、法定代理人、輔助人或有同意權之人之同意完全出於其自由意願後，應於受試者同意書簽名並載明日期。試驗相關人員不得為見證人。

分項計畫 2： 慢性呼吸衰竭病患潛伏結核菌感染的篩檢、追蹤
以及預後因子分析

摘要

研究目的：慢性呼吸衰竭病患常合併多種慢性疾病，為免疫力低下的族群之一，我們希望透過丙型干擾素釋放試驗了解此族群潛伏性結核感染之比率及此群病患之預後。

研究方法：自民國 100 年 2 月起，我們於台大醫院加護病房及呼吸照護中心篩選使用呼吸器超過 21 日仍未能脫離呼吸器之病患。在取得病患或家屬之同意書後，我們收集包含年齡、性別、慢性疾病狀況、呼吸器使用時間、是否接受氣切、痰液抹片及實驗室檢查數值等臨床資料並為其安排丙型干擾素釋放測試。

主要發現：自民國 100 年 2 月至民國 100 年 12 月止共 115 名慢性呼吸衰竭患者進入本研究。平均年齡為 68.3 歲，標準差為 16.4 歲，男女比例為 1.3 (M/F 65/50)。呼吸衰竭原因最多為肺部感染(n=60, 52.2%)，其次為中樞神經系統疾病(n=24, 20.9%)。共 115 名病患完成丙型干擾素釋放測試，結果為 68 名(59.1%)呈陰性(negative)、19 名(16.5%)呈陽性(positive)，另外 28 名(24.3%)則為不確定反應(indeterminate)。以 logistic 迴歸做多變相分析，年齡小、血小板低下及丙型干擾素釋放測試呈不確定者為造成呼吸器脫離失敗之獨立因子。

結論及建議事項：慢性呼吸衰竭病患為結核病之高危險群，定期監控此類病患之潛伏性結核及活動性結核狀況將可減低結核菌散布之機率。

關鍵字：潛伏性結核、呼吸衰竭、丙型干擾素釋放測試

前言

自 1991 年起世界衛生組織開始重新重視結核病這個全球性的健康問題。即便近來開始的一些結核病防治策略之施行，例如：都治計畫，結核病仍然造成了全球每年 130 萬人的死亡，在感染造成的死亡疾病中僅次於後天免疫不全症候群。多重抗藥性菌株的出現、不夠精準而及時的診斷、醫療資源的獲得不易、效益不佳之疫苗及新藥開發的緩慢等因素都造成了結核病控制上的困難。

流行病學的調查是了解結核病這個複雜的全球健康的關鍵之一。結核病的傳染是透過人與人之間的飛沫傳染，而這些飛沫核被吸入人體的呼吸道後就可能產生感染。大約 30% 的結核病接觸者在結核菌素皮膚試驗中(tuberculin skin test, TST)會出現結核菌感染的證據¹。而在這些被感染的人群當中，大約有 5-10% 在兩年內會出現活動性結核病(active tuberculosis)之徵候；其餘大部分感染的病患則成為潛伏性結核感染(latent tuberculosis infection, LTBI)。潛伏性結核感染被定義為病患在結核菌素皮膚測試(TST)或丙型干擾素釋放試驗(interferon- γ release assay, IGRA)中呈現結核菌感染證據，但卻無臨床徵候，胸部 X 光也正常。這時所呈現的狀態為宿主的免疫系統可以抑制結核菌進一步感染，但卻無法完全清除結核菌。雖然大部分潛伏性結核感染之病患並不會死於結核病，但他們卻有極高的機會出現結核再活動並進而傳染給其周遭的人們；因此，潛伏性結核感染之病患成了社區裡最大之潛在結核病發病者。在結核病低盛行率區域裏，大部份的結核患者都是來自於結核再活動(47-87%)²⁻⁴；相反的，在高盛行率地區中，大部份之結核患者是來自於新近的感染⁵。一個潛伏結核感染病患其一生中結核再活動之風險大約是 10%，但在免疫系統缺損之病患，例如後天免疫不全症候群患(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)者，這個風險則提升至每年 10%。⁶ 而一個活動性結核病患，無論他是因為潛伏性結核感染再活動或是近來的感染而形成，一旦未診斷出來結核病且給予適當的治療，他每年將會傳染給 10-15 個人。⁷ 在醫療資源缺乏地區對一個非愛滋病之結核病患者而言，他可能需要在痰抹片呈陽性 1-3 年之後才能被正確的診斷出來；^{8,9} 而根據這樣的估算，這個患者有可能會將結核菌傳給其他 45 個人，這也是為什麼結核病的盛行率在經過這麼多的努力後依然沒有大幅度的下降且依然是全球健康的重大議題的原因。

在結核菌感染發生的初期，結核菌進入肺泡並被肺泡中的巨噬細胞(macrophage)及樹突細胞(dendritic cell)所吞噬，樹突細胞帶著結核菌及其抗原由肺泡進入縱膈腔淋巴結，並在淋巴結中引發了 T 細胞反應。淋巴球及巨噬細胞接下來就移動到原始感染的肺泡處，並進而形成肉芽腫(granuloma)。在結核菌感染的動物模式中，結核菌在初期感染後以對數增長的速度快速增殖，而在 T 細胞反應出現後，結核菌的生長也達到平原期，隨後出現肉芽腫的病理變化。¹⁰ 肉芽腫組織 – 一個結核病特有的變化，是一個聚集了發炎細胞並具有特殊結構的組織。肉芽腫被認為是身體免疫系統所構築的屏障，避免結核菌之進一步擴散。肉芽腫之維持是一個動態的反應過程，其主要包含了持續性的免疫系統對結核菌生長的抑制。

依據先前的研究，與結核病患者密切接觸者約有 20-30% 會形成潛伏性結核感染，而有 1% 會形成活動性結核，^{1,11} 這意味著有 70-80% 的結核病暴觸者並未受到感染。這些研究結果暗示著某些人的免疫系統是可以抵禦結核菌感染的。宿主本身對抗結核菌感染的機制主要是依靠固有之免疫反應(innate immune response)，主要包含巨噬細胞與樹突細胞與結核菌的交互作用。免疫細胞上之類鐸受體(Toll-like receptor, TLR)，已被證實為一確認結核菌侵入的一個重要受體。在小鼠的實驗中發現，缺乏 MyD88 之小鼠特別容易受到結核菌感染，隨後的實驗發現 TLR2, TLR4, TLR9 是對結核菌感染較重要的類鐸受體。¹²⁻¹⁵ 至於結核病如何從剛開始的急性感染轉變成潛伏性感染，目前知道的仍相當有限，主要的原因是因為缺

乏適當的動物模式。在猴子的動物實驗中，感染後約 4 星期會開始出現臨床症狀，6 星期後出現活動性結核病之猴子其周邊血液之單核球(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)會大量產生對結核菌特異之伽瑪干擾素(γ -interferon)，而出現潛伏性感染之猴子則不會有此現象。^{16,17} 在人類的觀察中則發現，對 ESAT6(一種結核菌蛋白質)產生高度免疫反應者與發聲活動性結核病是有相關的。¹⁸ 在過去的經驗中，升高的伽瑪干擾素通常反應了結核菌的數量，若能在疾病早期就減少結核菌的複製及生長，通常出現活動性結核病的機率也就較低。

傳統對結核病的看法是活動性結核病與潛伏性結核感染是兩個互不交集的疾病狀態，然而近來一些研究漸漸認為這只是同一個疾病具有不同嚴重度的兩個狀況。對丙型干擾素釋放試驗(IGRA)的一些回顧文獻發現，雖然活動性結核與潛伏性結核相較擁有較高之丙型干擾素(γ -IFN)產生，但其實每個個體間的變異相當大，也造成兩種狀態的數值有相當之重疊。¹⁹ 目前潛伏性結核診斷仍是以結核菌素皮膚測試(TST)或丙型干擾素釋放測試(IGRA)呈現陽性，但臨床上沒有出現症狀，且胸部 X 光無懷疑病灶即可認定為潛伏性結核感染；但由於缺乏進一步之檢驗，這流程的缺點為可能會錯失臨床上無症狀之活動性結核病。在先前一個六百多人的研究中發現痰培養陽性之結核病患者其中有 9%其胸部 X 光為正常，而且有不少病患並無臨床症狀。²⁰ 在非後天免疫不全症候群(non-AIDS)的病患中約有 5%是屬於這類亞臨床(subclinical)病例，但在後天免疫不全症候群(AIDS)的病患中此比例則提升至 22%。²¹ 雖然一般來說這類亞臨床病例比例並不高，但在人類免疫不全病毒(human immunodeficiency virus, HIV)及結核病感染高盛行區，這比例則會大幅的提升。²¹ 因此在這些地區痰液的檢查就變成結核病篩檢的標準流程項目之一。²²

同樣被診斷為潛伏性結核感染病患其可能也有完全不同的結核再活動風險；例如在未被確認的亞臨床病例其可能被認為是潛伏感染，這群病患就會有較高之再活動率。另一方面來說，也有一群病患即使免疫功能不佳仍不太會轉變成再活動病例，這些病例有可能是已經完全清除體內結核菌或是結核菌已經完全進入冬眠(dormant)狀態。以目前我們所擁有的診斷工具，要完全區分出這些不同風險的病患其實仍有相當之困難。根據流行病學的調查，臨床上容易得到潛伏性結核感染病患包括以下幾種：後天不全免疫症候群、營養不良、抽菸、酗酒、糖尿病、腎衰竭、惡性腫瘤及免疫抑制劑使用。^{23,24}

大約有 7%入住加護病房病患可能會需要呼吸器使用超過 3 個星期，^{25,26} 而這些病患也常會合併一些其他器官的功能喪失，例如：腎功能不全、心衰竭、中樞神經系統異常、肝硬化等。²⁷ 而呼吸衰竭患者若同時合併出現有肺結核感染時通常代表的是遠比一般肺炎更高之死亡率(47-80%)。²⁸⁻³⁰ 我們可以推測慢性呼吸衰竭患者由於經常伴隨一些其他器官之功能喪失，因此較一般人更容易得到結核病感染；而慢性呼吸衰竭患者若得到結核病感染代表其免疫系統功能可能較其他未得結核病者來的更差，因此也伴隨著較差之預後。由於肺部狀態不佳，慢性呼吸衰竭患者常會因反覆感染出現發燒、咳嗽、濃痰、呼吸困難等呼吸道症狀，胸部 X 光也常因新近或過去之感染出現或多或少之肺實質化或纖維鈣化性變化。凡此種種臨床表現，都造成臨床醫師難以和肺結核區分，也造成早期診斷之困難。潛伏性結核感染在結核病低盛行率地區已被證實為活動性結核的重要原因，²⁻⁴ 但其於慢性呼吸衰竭的角色卻少有人探討，我們希望透過丙型干擾素釋放試驗(IGRA)來了解潛伏性結核感染於此族群中之盛行率、哪些器官衰竭或藥物使用會增加潛伏感染風險、與體內細胞激素之關聯以及其對死亡率或呼吸器脫離率之影響。依分析結果，希望未來可以對此群病患提供更好之結核病診斷流程，即早治療以提升慢性呼吸衰竭患者整體之預後，減少周遭病患及照護人員的健康威脅。

材料與方法

我們篩選使用侵襲性呼吸器超過 21 日之病人，經與家屬及病患詳細解說，取得同意書後，若此次入院後未曾檢送結核菌痰液抹片及培養者，取三套痰送抹片及培養，以排除亞臨床(subclinical)之活動性肺結核。隨後我們將採取病患週邊血液利用結核分枝桿菌特有的抗原—early-secreted antigenic target 6 (ESAT-6) 和 culture filtrate protein 10 (CFP-10) —進行 γ 型干擾素測試。若 γ 型干擾素測試呈陽性反應，我們將於一年後請病患再次追蹤痰液抹片及培養，以了解潛伏性結核感染是否轉變成活動性肺結核。

當病患及家屬同意接受此臨床試驗後，我們將同時收集以下臨床資料：性別、年齡、住院期間、入住加護病房原因、呼吸衰竭原因、呼吸器使用時間、呼吸器脫離狀態、器官衰竭狀態、是否使用免疫抑制劑等。

納入條件：

1. 呼吸衰竭使用侵襲性呼吸器超過 21 日仍未能脫離呼吸器患者
2. 年齡達 18 歲或 18 歲以上
3. 預期存活期間超過 6 個月
4. 中性白血球高於 $0.75 \times 10^9/L$

排除條件：

1. 年齡小於 18 歲
2. 活動性結核病患者
3. 末期疾病患者，預計存活無法超過 6 個月
4. 後天免疫不全症患者

痰液抗酸性抹片和分枝桿菌培養：

在研究中，臨床收集的痰液，會在室溫下先以同體積的 NaOH-citrate-NALC 混合 15 分鐘後離心，然後根據標準流程，利用 auramine-rhodamine fluorochrome 染色，陽性的抹片會以 Kinyoun 染色再次確定。而分枝桿菌的培養則是同時接種在兩種培養基上：含有抗生素的 Middlebrook 7H11 選擇性培養基 (Remel Inc., Lexena, Kans.) 和利用螢光技術的 BACTEC MGIT 960 系統 (Becton-Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Md.)³¹

丙型干擾素釋放試驗：

在我們的研究中使用的丙型干擾素檢測試劑是 QuantiFERON-Gold(QFT)(Cellestis, Carnegie, Australia)。操作步驟就如同之前的文章所提到的，³²包括兩個階段：(1) 全血與結核分枝桿菌特有抗原共同刺激培養一天、(2) 利用 ELISA 定量培養液中的丙型干擾素。簡單的說，在採血後的 12 小時內，將全血放入 24 格的培養盤中，每位受試者需要 4 格，每格需要 1 mL 全血。在第一格中加入三滴食鹽水 (nil control)，第二格中加入三滴 5 g/mL phytohemagglutinin (mitogen-positive control)，第三、第四格中各加入 100 μ L 含有 ESAT-6 或 CFP-10 的試劑。在攝氏 37 度培養 16 到 24 小時後，收集培養盤中 300 μ L 的上清液，利用原廠 QuantiFERON-CMI ELISA 試劑定量其中的丙型干擾素，結果會以每 mL 中有多少國際單位 (international unit) 的丙型干擾素來表示。如果檢驗正確，至少一種抗原的刺激產生的丙型干擾素必須要比陰性對照組大 0.25 個國際單位。把 ESAT-6 或 CFP-10 抗原所產生的丙型干擾素的量扣掉陰性對照組的丙型干擾素的量，就得到最後的結果。

結果

自民國100年4月1日起，我們於台大醫院呼吸照護中心及加護病房篩選使用呼吸器超過21日仍未能順利脫離呼吸器之慢性呼吸衰竭患者。至民國100年12月16日止，共115名病患簽署同意書進入本研究，其中111名患者已有丙型干擾素釋放測試結果。此115名慢性呼吸衰竭患者其平均年齡為68.3歲，標準差為16.4歲，男女比例為65/50。呼吸衰竭原因最多為肺部感染(n=60, 52.2%)，其次為中樞神經系統疾病(n=24, 20.9%)。65名(56.5%)病患於本次住院中接受氣切手術，6名(5.2%)病患則在本次住院前已接受過氣切手術，44(38.3%)病患則未接受氣切手術。丙型干擾素釋放測試的結果為68名(59.1%)為陰性(negative)、19名(16.5%)為陽性(positive)，另外28名(24.3%)則為不確定反應(indeterminate)。19名丙型干擾素釋放測試陽性患者中，6名目前仍住院進行呼吸器脫離訓練，2名轉呼吸照護病房，1名轉護理之家，10名返家做後續照護。

結至12月16日止，共有100名病患已接受完整呼吸器脫離訓練及評估，其中66名(66.0%)成功脫離呼吸器，34名(34.0%)呼吸器脫離失敗。若以丙型干擾素釋放測試結果來分組(表一)，丙型干擾素釋放測試呈陽性者共16人，其中11人成功脫離呼吸器，成功率為68.8%；丙型干擾素釋放測試呈不確定者共25人，其中13人成功脫離呼吸器，成功率為52.0%；丙型干擾素釋放測試呈陰性者共59人，其中42人成功脫離呼吸器，成功率為71.2%。由此看出丙型干擾素釋放測試呈不確定者似乎較不容易成功脫離呼吸器。若以logistic迴歸來做多變相分析，年紀輕、血小板低下及丙型干擾素釋放測試呈不確定者為造成呼吸器脫離失敗之獨立因子(表二)。另外，針對丙型干擾素釋放測試呈陽性者做多變項分析，則呈現BMI ≥ 24 Kg/m² 為可能之預測因子 (OR 10.45, 95% CI 1.07-101.67, $p=0.04$)。

討論

由目前已知初步結果的收案族群來看，使用呼吸器超過21日的慢性呼吸衰竭族群其中有潛伏性結合感染的比例約為16.5%；這比例與先前針對一些免疫力低下族群所做的研究其潛伏性結合感染的比例約為15% - 21%差不多。³³⁻³⁵ 但與其他免疫不全族群結果相異的是我們的研究顯示在慢性呼吸衰竭族群中有高達24.3%的人其丙型肝炎病毒釋放測試的結果為不確定之反應，這與其他先前研究免疫低下族群之不確定反應比例約為7.2% - 12.7%高出不少。^{33,36,37} 這群不確定反應之病患，在臨床上統計也是呼吸器脫離率最低的一群。

在此研究進行的初期，我們即發現檢驗結果出現較高比例之不確定反應。因此，我們對於不確定反應之患者皆有抽第二次血進行IGRA之再確認，兩次檢查皆為不確定反應才會列為不確定反應組。另外，本子計畫所進行IGRA試驗與”接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療之自體免疫疾病患者”及”血液及腹膜透析病人”等兩個高危險族群研究，乃使用共同的實驗室並由共同的實驗助理群進行實驗操作。而另兩個子計畫所呈現之IGRA結果並無明顯之異常，因此我們可以初步排除因實驗室操作不當所造成之異常結果，意即在台大醫院的這群慢性呼吸衰竭患者確實呈現較高比例之不確定反應。

進一步探討這群病患出現不確定反應可能的原因，所有出現不確定反應病患皆呈現為Low mitogen response，即病患因免疫系統功能不佳無法對外來抗原產生反應，因此無法判別其是否有潛伏結核感染。之但由於免疫力較其他病患低落，這群病患其實仍有相當高的機率有潛伏結核感染，且一旦有潛伏結核感染其發病率可能比其他病患更高。所以若把陽性病患及不確定反應病患加總起來，慢性呼吸衰竭患者有高達40.8%之病患未來有可能成為活動性結核患者。

由於慢性呼吸衰竭患者的疾病特性，此群病患的臨床特點主要包含呼吸道分泌物黏稠且量多、多數病患有氣切造口、反覆呼吸道感染常需至醫療機構就診、生活自理能力不佳需長時間耗用大量照護人力等；若病患一旦出現活動性結核之後其影響的範圍及層面也往往較一般結核病患來的更多。因此，對於此群病患之潛伏性結核所帶來的影響是值得後續更大規模之研究與追蹤的。

本計畫至目前為止收案數為115名病患，為原預估收案病例數150名之76.7%，探究未能達成目標之原因有下列幾個：1. 慢性呼吸衰竭患者本身常具有多重器官衰竭問題，因此才造成病患呼吸器脫離困難。家屬對於如此虛弱之患者要參加臨床試驗抽取額外之血液檢驗，心理層面上會有擔憂及抗拒之狀況產生，造成收案上的阻力。2. 部分家屬有鴛鴦心態，害怕檢驗出來若呈現陽性反應，對於家屬後續尋找長期看護或轉至長期照護機構會產生阻力，因此寧願不接受檢驗，眼不見為淨。而這群病患家屬由於病患已體弱多病多年，長期照護下早已心力交瘁，並不期望病患可以長期存活，因此對於參加檢驗可以早期了解結核病風險並進而增加病患存活機會並不在意。3. 本年度計畫之起步較晚，因此造成進度上較為落後。由於使用呼吸器超過21日之慢性呼吸衰竭患者是隨著時間每個月會出現新的適合收案病患，而不是已有一群目標病患已在醫院長期就診追蹤，無論計畫開始時間為何，只要一開始收案短期內就會有大量個案陸續進入研究，因此起步時間之早晚會造成最後收案數量之差異。

結論與建議

慢性呼吸衰竭病患為結核病之高危險群，且其因身體狀況不佳常需耗用大量醫療資源，一旦出現活動性結核將帶給身旁照護者及醫療機構之病友一定的健康威脅，定期監控此類病患之潛伏性結核及活動性結核狀況將可減低結核菌散布之機率。

本年度計畫重要研究成果及對國家政策之具體建議

1. 本計畫之新發現或新發明

慢性呼吸衰竭患者其丙型干擾素釋放測試之結果分布為 59.1%陰性(negative)、16.5%陽性(positive)及 24.3%不確定反應(indeterminate)。以 logistic 迴歸來做多變相分析，年紀輕、血小板低下及丙型干擾素釋放測試呈不確定者為造成呼吸器脫離失敗之獨立因子。BMI $\geq 24\text{Kg/m}^2$ 則為丙型干擾素釋放測試陽性可能之獨立因子。

2. 本計畫對民眾具教育宣導之成果

慢性呼吸衰竭患者為結核病之高危險群，無論家庭或醫療機構照護者往往需要花費大量的時間及精力來照護這群病患。了解這群病患可能的結核病風險，並進而對自己做好適當之保護，才能長久對這群患者提供良好的醫療照護。

3. 本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

定期監控此類病患之潛伏性結核及活動性結核狀況將可減低結核菌散布之機率。

參考文獻

1. Jereb J, Etkind SC, Joglar OT, Moore M, Taylor Z. Tuberculosis contact investigations: outcomes in selected areas of the United States, 1999. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7:S384-90.
2. Small PM, Hopewell PC, Singh SP, et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl J Med* 1994;330:1703-9.
3. Barnes PF, Yang Z, Preston-Martin S, et al. Patterns of tuberculosis transmission in Central Los Angeles. *JAMA* 1997;278:1159-63.
4. Weis SE, Pogoda JM, Yang Z, et al. Transmission dynamics of tuberculosis in Tarrant county, Texas. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:36-42.
5. Verver S, Warren RM, Munch Z, et al. Transmission of tuberculosis in a high incidence urban community in South Africa. *Int J Epidemiol* 2004;33:351-7.
6. Selwyn PA, Alcabes P, Hartel D, et al. Clinical manifestations and predictors of disease progression in drug users with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1992;327:1697-703.
7. Global Tuberculosis Control A SHORT UPDATE TO THE 2009 REPORT. World Health Organization, 2009. (Accessed at http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/update/en/index.html.)
8. Borgdorff MW. New measurable indicator for tuberculosis case detection. *Emerg Infect Dis* 2004;10:1523-8.
9. Corbett EL, Charalambous S, Moloi VM, et al. Human immunodeficiency virus and the prevalence of undiagnosed tuberculosis in African gold miners. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:673-9.
10. Lazarevic V, Nolt D, Flynn JL. Long-term control of *Mycobacterium tuberculosis* infection is mediated by dynamic immune responses. *J Immunol* 2005;175:1107-17.
11. Marks SM, Taylor Z, Qualls NL, Shrestha-Kuwahara RJ, Wilce MA, Nguyen CH. Outcomes of contact investigations of infectious tuberculosis patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:2033-8.
12. Scanga CA, Bafica A, Feng CG, Cheever AW, Hieny S, Sher A. MyD88-deficient mice display a profound loss in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* associated with partially impaired Th1 cytokine and nitric oxide synthase 2 expression. *Infect Immun* 2004;72:2400-4.
13. Fremont CM, Yermeev V, Nicolle DM, Jacobs M, Quesniaux VF, Ryffel B. Fatal *Mycobacterium tuberculosis* infection despite adaptive immune response in the absence of MyD88. *J Clin Invest* 2004;114:1790-9.
14. Means TK, Jones BW, Schromm AB, et al. Differential effects of a Toll-like receptor antagonist on *Mycobacterium tuberculosis*-induced macrophage responses. *J Immunol* 2001;166:4074-82.
15. Abel B, Thieblemont N, Quesniaux VJ, et al. Toll-like receptor 4 expression is required to control chronic *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice. *J Immunol* 2002;169:3155-62.
16. Lin PL, Pawar S, Myers A, et al. Early events in *Mycobacterium tuberculosis* infection in cynomolgus macaques. *Infect Immun* 2006;74:3790-803.
17. Lin PL, Rodgers M, Smith L, et al. Quantitative comparison of active and latent tuberculosis in the cynomolgus macaque model. *Infect Immun* 2009;77:4631-42.
18. Doherty TM, Demissie A, Olobo J, et al. Immune responses to the *Mycobacterium*

- tuberculosis-specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients. *J Clin Microbiol* 2002;40:704-6.
19. Chee CB, Barkham TM, Khinmar KW, Gan SH, Wang YT. Quantitative T-cell interferon-gamma responses to Mycobacterium tuberculosis-specific antigens in active and latent tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28:667-70.
 20. Pepper T, Joseph P, Mwenya C, et al. Normal chest radiography in pulmonary tuberculosis: implications for obtaining respiratory specimen cultures. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008;12:397-403.
 21. Jones BE, Young SM, Antoniskis D, Davidson PT, Kramer F, Barnes PF. Relationship of the manifestations of tuberculosis to CD4 cell counts in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:1292-7.
 22. Lawn SD, Myer L, Edwards D, Bekker LG, Wood R. Short-term and long-term risk of tuberculosis associated with CD4 cell recovery during antiretroviral therapy in South Africa. *AIDS* 2009;23:1717-25.
 23. Horsburgh CR, Jr. Priorities for the treatment of latent tuberculosis infection in the United States. *N Engl J Med* 2004;350:2060-7.
 24. Jick SS, Lieberman ES, Rahman MU, Choi HK. Glucocorticoid use, other associated factors, and the risk of tuberculosis. *Arthritis Rheum* 2006;55:19-26.
 25. Simonds AK. Streamlining weaning: protocols and weaning units. *Thorax* 2005;60:175-82.
 26. MacIntyre NR, Epstein SK, Carson S, Scheinhorn D, Christopher K, Muldoon S. Management of patients requiring prolonged mechanical ventilation: report of a NAMDRG consensus conference. *Chest* 2005;128:3937-54.
 27. Aboussouan LS, Lattin CD, Kline JL. Determinants of long-term mortality after prolonged mechanical ventilation. *Lung* 2008;186:299-306.
 28. Penner C, Roberts D, Kunimoto D, Manfreda J, Long R. Tuberculosis as a primary cause of respiratory failure requiring mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:867-72.
 29. Lee PL, Jerng JS, Chang YL, et al. Patient mortality of active pulmonary tuberculosis requiring mechanical ventilation. *Eur Respir J* 2003;22:141-7.
 30. Lin SM, Wang TY, Liu WT, et al. Predictive factors for mortality among non-HIV-infected patients with pulmonary tuberculosis and respiratory failure. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009;13:335-40.
 31. O'Sullivan CE, Miller DR, Schneider PS, Roberts GD. Evaluation of Gen-Probe amplified mycobacterium tuberculosis direct test by using respiratory and nonrespiratory specimens in a tertiary care center laboratory. *J Clin Microbiol* 2002;40:1723-7.
 32. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:59-64.
 33. Richeldi L, Losi M, D'Amico R, et al. Performance of tests for latent tuberculosis in different groups of immunocompromised patients. *Chest* 2009;136:198-204.
 34. Triverio PA, Bridevaux PO, Roux-Lombard P, et al. Interferon-gamma release assays versus tuberculin skin testing for detection of latent tuberculosis in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1952-6.
 35. Vassilopoulos D, Tsikrika S, Hatzara C, et al. Comparison of two interferon-gamma release assays and tuberculin skin testing for tuberculosis screening in a cohort of rheumatic patients starting anti-TNF therapy. *Clin Vaccine Immunol* 2011.
 36. Jeong SJ, Han SH, Kim CO, et al. Predictive factors for indeterminate result on the

QuantiFERON test in an intermediate tuberculosis-burden country. *J Infect* 2011;62:347-54.

37. Powell RD, 3rd, Whitworth WC, Bernardo J, Moonan PK, Mazurek GH. Unusual interferon gamma measurements with QuantiFERON-TB Gold and QuantiFERON-TB Gold In-Tube tests. *PLoS One* 2011;6:e20061.

表一、丙型干擾素測試結果與呼吸器脫離成果

IGRA	陰性 (Negative)	不確定 (Indeterminate)	陽性 (Positive)
呼吸器脫離成功	42 (71.2%)	13 (52.0%)	11 (68.8%)
呼吸器脫離失敗	17 (28.8%)	12 (48.0%)	5 (31.2%)
總數	59	25	16

表二、影響呼吸器脫離成功因子之多變項迴歸分析

	Hazard Ratio (95% confidence interval)	<i>p</i> value
年齡 (每增加 10 歲)	1.44 (1.04–2.01)	0.03
血小板低下 ($\leq 100,000$ cells/ μ L)	0.15 (0.04–0.56)	0.005
IGRA 呈不確定反應	0.25 (0.07–0.90)	0.03

分項計畫 3： 接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療之自體免疫疾病
患者潛伏結核菌感染的篩檢、追蹤以及結核病發
病的預測因子

前言

類風濕性關節炎是常見的自體免疫疾病，因疾病之因素及長期使用免疫調節藥物包括腫瘤壞死因子阻斷劑 (Tumor necrosis factor blockade, anti-TNF)，使得此一族群有較高感染結核疾病的風險 [1, 2]。此類病人結核病發生率較高的原因包括較高的潛伏性結核感染 (Latent tuberculosis infection, LTBI) 之復發率及結核再感染率 [3, 4]。根據一個在瑞典所進行的的大規模研究 [5]，類風濕性關節炎病人得到結核病的風險約為一般人的 2 倍，但若接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療後，則得結核病風險將再增加 4 倍。而台灣為結核病高盛行率國家 [6]，不僅潛伏性結核感染之盛行率較高，此類病人接觸到活動性肺結核病人之風險亦較高，故歐美等結核病低盛行率地區的研究結果難以套用於台灣。建立本土之資料以作為公衛決策上之依據並提供國際上結核病盛行率相當之國家作為參考甚為重要。

本研究針對可能或正接受腫瘤壞死因子阻斷劑 (anti-tumor necrosis factor blockade) 治療之類風濕性關節炎病患，前瞻性的使用丙型干擾素釋放試驗篩檢、痰耐酸性染色及分枝桿菌培養、及影像學檢查等，以偵測潛伏性結核及活動性結核。目標在了解風濕免疫疾病病患中，「有」和「沒有」接受腫瘤壞死因子阻斷劑治療的病人：

- (1) 潛伏性結核感染的盛行率
- (2) 活動性結核病之發生率
- (3) 潛伏結核菌感染發展為活動性結核病之比率及危險因子
- (4) 丙型干擾素釋放試劑是否能準確預測活動性結核病的發生
- (5) 在此一特殊族群，施行潛伏結核菌感染篩檢之成本效益

材料與方法

本研究為一多中心前瞻性世代研究 (Prospective cohort study)，參與之醫院包括臺大醫院、台北榮總、以及基隆長庚。研究開始之時間為西元 2011 年 3 月。自受試者加入研究開始，每六個月以丙型干擾素釋放試驗(Interferon gamma release assay)檢測追蹤類風濕性關節炎之病人，其中包含「接受」及「未接受」腫瘤壞死因子阻斷劑治療的病人以為對照(使用腫瘤壞死因子阻斷劑者 150 人，未使用腫瘤壞死因子阻斷劑者 150 人)，藉以了解風濕免疫疾病病人潛伏性結核感染的盛行率，風濕免疫疾病病人活動性結核病的發生率，以及腫瘤壞死因子阻斷劑對丙型干擾素釋放試驗測驗偵測潛伏性結核感染之影響。

丙型干擾素釋放試驗是目前較新的方法用以檢測潛伏性結核感染，作法是將受試者週邊血液與結核菌專一性的抗原一起培養，偵測免疫細胞所分泌的丙型干擾素來判定病人是否得到過結核菌感染，此一測試方法已通過美國 FDA 核准用於輔助診斷結核感染 [7]。

流程：1) 丙型干擾素釋放試驗檢測，及胸部 X 光及驗痰排除活動性結核病

2) 每半年追蹤檢測丙型干擾素釋放試驗及胸部 X 光

3) 追蹤期限：發生活動性結核病或追蹤滿 2 年

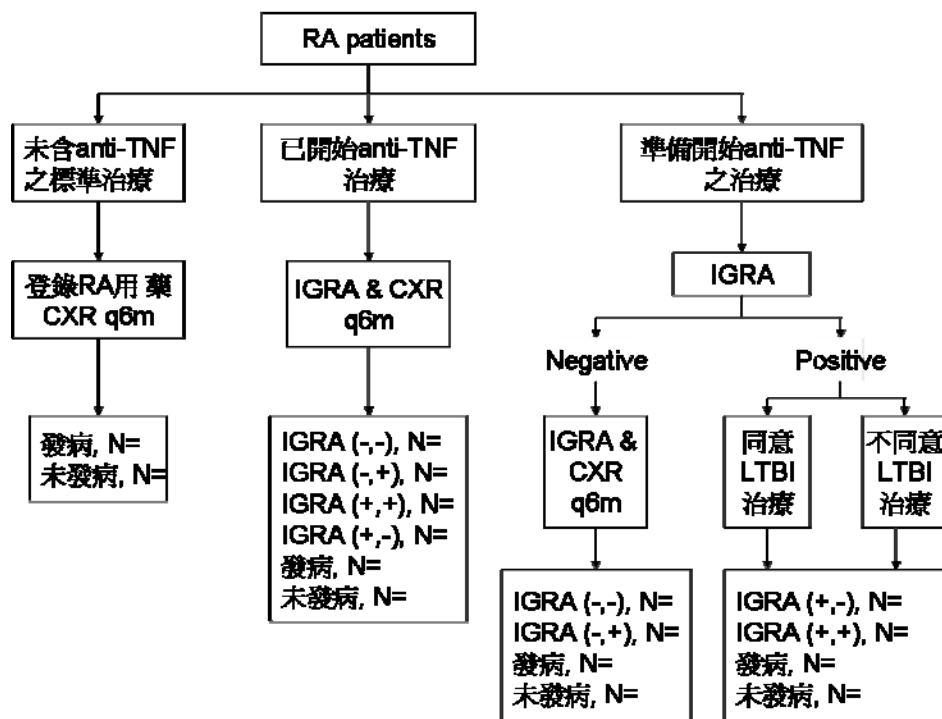
排除條件

- (1) 已知罹患活動性結核病
- (2) 正接受潛伏性結核感染之治療
- (3) 愛滋病毒感染者
- (4) 骨髓疾病或血液腫瘤
- (5) 癌症患者
- (6) 預計存活時間小於一年

試驗流程

於三家醫院門診徵招類風濕性關節炎的病人，分為「已接受」、「未接受」及「新接受」腫瘤壞死因子阻斷劑治療的三類病人以作為對照(見下頁流程圖)。步驟如下：

- (1) 病人收案，說明追蹤計畫及填寫同意書，紀錄病人基本資料、風濕免疫疾病嚴重度分級、過去病史、個人及家族結核病病史、6 個月內之用藥紀錄特別是類固醇之使用及劑量
- (2) 收案前執行胸部 X 光及 3 套痰液結核菌培養以排除活動性肺結核
- (3) 於第 0、6、12 個月執行以下檢驗：
 - a. 胸部 X 光 (於第 0、6、12 個月或有呼吸道症狀時)
 - b. 丙型干擾素釋放試劑檢測 (見檢驗流程第一項)
 - c. 血球分類計數
- (4) 追蹤期限為發生活動性結核病或追蹤滿 24 個月



結果

自西元 2011 年 3 月至 10 月底為止，本計畫共執行 8 個月，總共收案類風濕性關節炎患者 167 人，其中有 101 人接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療，參加病人之背景資料如(表一)。此 167 人收案受試者皆接受了第一次的丙型干擾素釋放試驗(IGRA)檢測，結果如(表二)。若以 IGRA 陽性反應作為潛伏性結核感染之指標，則此一族群有 19 人(11%)為潛伏性結核感染患者，陰性反應者有 133 人(80%)，其餘(9%)為不確定性 (Indeterminate)。截至 2011 年 12 月報告書寫日期為止，受試者追蹤期之中位數約為 6 個月，仍未有活動性結核患者被發現。由於尚未有活動性肺結核患者產生，故無法計算風濕免疫疾病病人活動性結核病的發生率。接受腫瘤壞死因子阻斷藥物治療者 (N=101)，IGRA 陽性率為 11% (11 人)；而未接受此治療者 IGRA 陽性率為 12% (8 人)，兩者無統計學上之意義。多變數分析顯示年齡是唯一影響 IGRA 盛行率之因子。

結論與建議

由此一多中心之觀察性研究顯示，臺灣類風濕性關節炎患者之丙型干擾素釋放試驗陽性率約為 11%，腫瘤壞死因子阻斷藥物治療，並不影響 IGRA 陽性反應之盛行率。惟此一族群之 IGRA 陽性反應之盛行率，低於其他結核病高危險族群如洗腎患者等，是否因自體免疫疾病及使用免疫抑制劑之故，或是年齡分布之影響，有待收案結束之後，與其他子計畫收案之世代相較，即可作一評估。在將來接續追蹤丙型干擾素釋放試驗數次之後的結果得到之後，依照 IGRA 的時序性變化，可推估在台灣新感染結核及潛伏性結核復發在此一特殊族群之風險。相關之數據可作為制定本國對於此一病人族群，潛伏性結核感染治療準則之實證證據。

本研究案原先計畫收案 300 人，但因倫委會通過時間及計畫案簽約時間延宕之故，造成各參加醫院開始收案時間落後於預期，例如台北榮總至 2011 年 6 月始開始收案。若以每月收案數來看，收案進度符合預期。另此研究報告僅納入已完成資料登錄之個案，2011 年 11 月及 12 月收案之個案尚未納入此報告中。

本年度計畫重要研究成果及對國家政策之具體建議

1. 本計畫之新發現或新發明

由此一多中心之觀察性研究顯示，居住於北台灣之類風濕性關節炎患者之丙型干擾素釋放試驗陽性盛行率約為 11%。腫瘤壞死因子阻斷藥物治療，並不影響丙型干擾素釋放試驗陽性反應之盛行率。

2. 本計畫對民眾具教育宣導之成果

類風濕性關節炎患者中約有 11% 的人可能有潛伏性結核感染，此類患者因長期接受免疫抑制藥物治療，由國外研究已知有較高的風險得到活動性結核，故更因注意自身是否有久咳不癒等疑似肺結核之症狀，若有應及早就醫接受評估。

3. 本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

若以丙型干擾素釋放試驗陽性反應，來當作是潛伏性結核感染之指標，居住於北台灣之類風濕性關節炎患者，其陽性率約為 11%。在將來接續追蹤丙型干擾素釋放試驗數次之後的結果得到之後，依照丙型干擾素釋放試驗的時序性變化，可推估在台灣新感染結核及潛伏性結核復發在此一特殊族群之風險。相關之數據可作為制定本國對於此一病人族群，潛伏性結核感染治療準則之實證證據。

表一、167 位類風濕性關節炎患者之背景資料

Characteristics	N (%)
Age, mean \pm S.D., yr	55 \pm 13
Female/Male, N (%)	149/18 (89/11)
RA duration, median (IQR), yr	6 (3-10)
DAS-28, mean \pm S.D.	4.4 \pm 1.8
Anti-TNF-alpha therapy	101 (60)
Adalimumab	46 (27)
Etanercept	55 (33)
Comorbidity & underlying diseases	
Diabetes	10 (6)
Liver cirrhosis	1 (<1)
Renal failure needed dialysis	2 (1)
Past history of TB	6 (4)
Abnormal CXR on enrollment	32/144 (22)

表二、收案時第一次丙型干擾素釋放試驗結果

	N	Positive	Negative	Indeterminate
Total	167	19 (11)	133 (80)	15 (9)
Anti-TNF (+)*	101	11	81	9
Anti-TNF (-)*	66	8	52	6

*p-value > 0.05

參考文獻

1. Gomez-Reino JJ, Carmona L, Valverde VR, Mola EM, Montero MD, (2003) Treatment of rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor inhibitors may predispose to significant increase in tuberculosis risk: a multicenter active-surveillance report. *Arthritis Rheum* 48: 2122-2127
2. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, Siegel JN, Braun MM, (2001) Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 345: 1098-1104
3. Algood HM, Lin PL, Flynn JL, (2005) Tumor necrosis factor and chemokine interactions in the formation and maintenance of granulomas in tuberculosis. *Clin Infect Dis* 41 Suppl 3: S189-193
4. Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, Manners S, Skamene E, Long R, Vinh DC, (2003) Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. *Lancet Infect Dis* 3: 148-155
5. Askling J, Forede CM, Brandt L, Baecklund E, Bertilsson L, Coster L, Geborek P, Jacobsson LT, Lindblad S, Lysholm J, Rantapaa-Dahlqvist S, Saxne T, Romanus V, Klareskog L, Feltelius N, (2005) Risk and case characteristics of tuberculosis in rheumatoid arthritis associated with tumor necrosis factor antagonists in Sweden. *Arthritis Rheum* 52: 1986-1992
6. Kuo S, Shi W, Lin T, Chow J, Chen Y, Chuang J (2009) Taiwan Tuberculosis Control Report 2009. In: Editor (ed)^(eds) Book Taiwan Tuberculosis Control Report 2009. City, pp.
7. Mazurek M, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K, (2010) Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep* 59: 1-25

分項計畫 4： 血液及腹膜透析病人潛伏結核菌感染的篩檢、追蹤以及結核病發病的預測因子

摘要

目的：由於慢性腎衰竭接受透析治療的病人，在結核發病上是屬於免疫不全的高危險群，而過去較少針對腹膜透析病患的資料，在北台灣也缺乏整體性的篩檢，來作未來潛伏結核感染策略的擬定。因此，針對該族群，將前瞻性使用丙型干擾素釋放試劑篩檢以了解接受血液透析和腹膜透析者，各自潛伏結核菌感染的盛行率，以及潛伏結核感染陽性的相關因子。

研究方法：針對慢性腎衰竭接受透析治療的病人，將在台大醫院作招募收案，執行丙型干擾素釋放試劑檢測，並針對病患長期透析的模式，進一步分成血液透析或是腹膜透析兩組，進一步分析兩組在潛伏結核感染陽性率的影響。另外，也研究分析潛伏結核感染陽性率的相關因子。

結果：本研究一共招募收案收案 234 名長期透析患加入，接受 QuantiFERON-TB(克肺癆)的篩檢。接受篩檢之個案，平均年齡為 60 歲，男性佔其中 114 位(49%)，平均已接受透析年齡 4 年，共有 125 人為接受腹膜透析，另 109 為接受血液透析。克肺癆的篩檢結果為陽性人數佔 42 位(17.9%)，陰性為 184 位(78.6%)，而另外 8 位(3.4%)結果為 indeterminate。在扣去 indeterminate 結果反應個案後，陽性反應個案約呈現 18.5%。其中並無活動性結核病患者。在目前已半年的追蹤之下，無個案發生活動結核病的發生。針對不同洗腎模式的個案，接受血液透析的病患與接受腹膜透析個案，在克肺癆篩檢結果陽性反應比例是相似，但是相較之下。若是以克肺癆篩檢結果來作分類比較，可發現測驗陽性的個案，基本特徵比其它結果組別有年紀較高($p = 0.020$)，也較常有慢性咳嗽以及 CXR 片任何的病灶表現，而其它在結核暴露史、抽煙、洗腎年齡等，都沒有顯著意義的差別。以多變數迴歸分析下，可發現只有年齡為唯一的有意義相關因子。

結論及建議：在北台灣一醫學中心之洗腎中心調查，長期洗腎透析之患者其潛伏性結核感染的盛行率為 18.5%。接受血液透析與腹膜透析模式不同的兩組，其潛伏性結核感染的陽性率相似，並不因血液透析組會有經常性的群聚活動(每週二到三次的到醫院洗腎)，而有較高的潛伏性結核陽性率。年齡增長在多變數迴歸分析下，是與 QFT-TB Gold 篩檢陽性最為相關的指標。可建議在資源有限之下，優先針對年紀大於 50 歲以上病友作篩檢諮詢。

關鍵詞：潛伏性結核病、丙型干擾素、長期透析、腎臟衰竭

前言

結核病仍是目前全世界最重要的感染症，儘管這幾年來台灣肺結核管控有顯著成效，但台灣目前仍是高盛行區[1]。根據世界衛生組織的估計，在公元 2001 到 2010 年這十年中，世界上大約會有三億人被結核菌感染，大約會有三千萬人死於結核病[2]。2008 年，台灣地區結核病發生率仍然高達每十萬人口中有 62 人，而相關死亡率每十萬人口中有 3.3 人[3]。想要成功的控制結核病，就必須要能夠防止結核菌的傳播，並且早期診斷及治療潛伏性結核病 (latent tuberculosis)。在可疑病患篩檢中很重要的高危險族群中[4]，除了接觸者外，就是病患本身的免疫功能不全是得到結核病高危險因子，常見的如後天免疫不全症候群、類固醇使用以及腎功能不全接受長期人工透析等[5-8]。

末期腎病變接受長期人工透析的患者，在結核菌素皮膚試驗 (tuberculin skin test) 下，約有佔二到六成的病患皆有潛伏性結核病[9-13]，而得到活動結核病的風險是一般的 10 到 25 倍之高[6-7]，這使得腎衰竭的病人在結核病的發生率、死亡率都較高[14]。這族群尤其是對台灣格外的重要，因為在美國腎臟資料系統(United States Renal Data System)2009 年報，台灣慢性腎衰竭洗腎的人數，每百萬 2228 人，是全世界第一[15]。另外，腎衰竭的病人，發生活動性結核時，大多以肺外結核作為表現，因其症狀不典型，以及檢體採樣困難等原因，都會造成診斷的困難，而使治療的延後[16-17]。另外，在同樣群聚的腎臟透析單位，也使得該族群更容易在被診斷之前互相傳染[18]。是故，在台灣針對腎衰竭病患，應該作早期的治療潛伏性結核病，進一步在變成活動性結核之前，作有效的防治[4]。

以往都只能倚賴結核菌素皮膚試驗 (tuberculin skin test) 來診斷潛伏性結核病。但這項檢查最大的問題就在於與卡介苗 (BCG) 以及環境中的非結核分枝桿菌 (NTM) 的抗原會有交互反應 (cross-reactivity) [19]，導致偽陽性增加、陽性預測值偏低這種情況，特別是在像台灣這樣非結核分枝桿菌普遍存在環境中[20]、並且大部分民眾都接種卡介苗的地區，又使得結核菌素皮膚試驗的準確度更低。而在免疫力不全的病患包括洗腎病患，則會減少偵測力[21-22]，再加上施打結核菌素後，病患需要再次的就醫以判讀結果，十分的不方便。而一部分反應強烈的病人，甚至會造成注射處的潰爛。

目前，丙型干擾素釋放測驗(interferon- release assays, IGRAs)，利用結核菌特有的抗原—early-secreted antigenic target 6 (ESAT-6) 和 culture filtrate protein 10 (CFP-10) —與週邊血液共同培養後，偵測免疫細胞所分泌的丙型干擾素，來判斷受試者是否為潛伏性結核病之患者。這樣的方法，已經證實對免疫力低下的病患都能有效偵測，也不受卡介苗 (BCG) 的影響以及很少受環境中的非結核分枝桿菌 (NTM) 的干擾[22]，操作上十分簡便，少侵入性，病人也只需要一次就醫。唯一的缺點，就是價貴較昂貴。一般來說，對於潛伏性結核病偵測，許多的研究證實遠比傳統的結核菌素皮膚試驗來的準確[23-24]。但對於許多族群的角色，包括洗腎病人，仍需要更多的研究論證。

近年來對於洗腎病患，已有不少橫斷面的研究，確認了丙型干擾素釋放測驗是優於結核菌素皮膚試驗的，可推薦在洗腎病患之潛伏性結核病診斷[9, 11-12, 21]。但其佐證判斷都是以臨床線索、過去病史來作風險高低區分，雖可以作初步分析，但也可能被陳舊性的結核病史造成偽陽性而誤導，相對來說，仍缺少長期追蹤的世代觀察，對於其陽性率之於發生活動性結核的意義，來作更深入的探討。另外，目前的研究，甚少以洗腹膜透析患者作分析，對於這群居家透析病患，在沒有群聚的高風險下，潛伏性結核病的分佈是否會不同，都是我們有興趣，也有責任完成的課題。

因此，在台灣，這個結核病盛行地區，我們希望藉由丙型干擾素釋放測驗來施行透析患者(包括血液及腹膜透析)的潛伏性結核病早期篩檢，對丙型干擾素釋放測驗的患者作定期追蹤，並檢視最後結核發病者的相關性，並分析病患血中其它發炎物質、相關臨床表現及特徵，作發病因子的分析，及篩檢的成本分析，以期為未來丙型干擾素釋放測驗的效能評估。

假設

腎衰竭接受長期透析病患，以丙型干擾素釋放測驗陽性者，可準確預估活動性結核病的發生。

目的

針對慢性腎衰竭接受透析治療的病人，前瞻性使用丙型干擾素釋放試劑篩檢以了解

- 1) 接受血液透析和腹膜透析者，各自潛伏結核菌感染的盛行率及活動性結核病發病率
- 2) 丙型干擾素釋放試劑預測活動性結核病發病的準確性
- 3) 其他可能預測結核病發病的臨床特徵和血液指標(如細胞激素與發炎介質)
- 4) 潛伏結核菌感染篩檢之成本效益

材料方法

1. 研究性質方法: 前瞻性觀察性研究。
2. 研究期間: 2011/3/1~2011/12/31。
3. 收案地點: 台大醫院總院、雲林分院。
4. 預期收案人數: **150 人/年**。
5. 受試者選擇標準 (Patient eligibility)
 - 一)、受試條件如下:
 - A. 年紀大於或等於 18 歲
 - B. 為慢性腎衰竭長期接受血液或腹膜透析(大於三個月)。
 - C. 有意願接受本研究追蹤。
 - 二)、排除條件如下:
 1. HIV 血清學檢測為陰性。
 2. 屬於 Child 分類 C 級的肝硬化病患。
 3. 接受長期類固醇治療病患。
 4. 活動性癌症併轉移, 或短期內(三個月)有接受化學治療。
 5. 臨床及影像學檢查有活動性結核病的證據。
 6. 預期存活不超過一年。
 7. 收案三年內沒有活動性結核病病史。
6. 執行流程
 - 一)、前三個月先針對所有有意願參加且不具有已知排除條件的透析病患收案, 經過詳細說明填妥同意書。
 - 二)、進行丙型干擾素測試篩檢, 採取週邊血液利用結核菌特有的抗原—early-secreted antigenic target 6 (ESAT-6) 和 culture filtrate protein 10 (CFP-10)。(請參見以下第 7 點之第二項:丙型干擾素試驗)
 - 三)、一旦測試結果呈陽性且符合受試條件, 則進行活動性結核檢測 (胸部 X 光、收取痰液進行抗酸性染色和分枝桿菌培養), 若不具有排除條件, 則預計收案為**篩檢陽性組**。
 - 四)、針對**篩檢陽性組**, 每 6 個月追蹤一次篩檢 (接受胸部 X 光、收取痰液進行抗酸性染色、分枝桿菌培養、採取血液進行丙型干擾素檢測)。
 - 五)、若丙型干擾素測試結果為陰性且符合受試者條件, 作基本排除活動性肺結核(胸部 X 光), 若不具有排除條件, 則預計收案為**篩檢陰性組**。
 - 六)、針對篩檢陰性病患, 每 6 個月追蹤一次篩檢 (利用丙型干擾素試劑)。
 - 七)、試驗期間內, 若有活動性結核病的懷疑, 則進一步依照臨床情況安排各項檢查。
 - 八)、追蹤完成後, 以發生活動性結核為主要終點。並分析相關因子。
 - 九)、統計方式: 各組間的差異, 將會針對連續變數使用 student *t* test 或是 One-Way ANOVA 檢定(視組別數), 而針對項目變數使用 *chi-square* test 來作檢定分析。在多變項迴歸時, 我們則是使用 logistic regression, 並採用單變項分析已可能有意義的變數($p < 0.015$), 使用 Forward condition 方式作分析, 最後 p 值 < 0.05 才被認為有顯著意義。所有的分析則是使用 SPSS 第 13 版。
8. 檢驗流程

- 一)、痰液抗酸性抹片和分枝桿菌培養：在研究中，臨床收集的痰液，會在室溫下先以同體積的 NaOH-citrate-NALC 混合 15 分鐘後離心，然後根據標準流程[25]，利用 auramine-rhodamine fluorochrome 染色，陽性的抹片會以 Kinyoun 染色再次確定。而分枝桿菌的培養則是同時接種在兩種培養基上：含有抗生素的 Middlebrook 7H11 選擇性培養基 (Remel Inc., Lexena, Kans.) 和利用螢光技術的 BACTEC MGIT 960 系統 (Becton-Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Md.) [26]。
- 二)、丙型干擾素試劑：在我們的研究中使用的丙型干擾素檢測試劑是 Quantiferon-TB Gold In-Tube (Celestis, Australia) test [27].
- A. Collect 1mL of blood into Nil, Antigen and Mitogen tubes.
 - B. Shake the three tubes
 - C. Incubate tubes at 37°C, 16~24 hours.
 - D. Centrifuge tubes for 15 minutes.
 - E. Harvested plasma is stable refrigerated for 4 weeks.
 - F. Add conjugate, plasma samples, and standards to ELISA.
 - G. Incubate for 120 minutes at room temperature.
 - H. Wash and add substrate.
 - I. Read absorbance after 30 minutes.
 - J. Software calculates results.

研究會議設立

本子計畫分項“324-血液及腹膜透析病人潛伏結核菌感染的篩檢、追蹤以及結核病發病的預測因子”，屬於結核病發作之高危險群研究，在2011年2月核定計畫通過，並於2011年4月與生策會/疾管局作計畫簽約手續後，開始執行本計畫分項。於一開始的籌備至今，與同計畫其它分項主持人，包括322-許嘉林醫師、323-阮聖元醫師，作每二週的執行會議討論，並邀請其它計畫主持人以及專家(台大醫院王振源助理教授以及李麗娜教授)等指導。

倫委會審核及資料庫建立

首先，本分項確認醫院倫委會的對計畫審核通過函(附錄一)，並在執行會議中，對研究團隊說明計畫內容及目標，討論潛伏受試者的招募，並整合教授、專家的意見，作同意書的修正，並擬定招募說明書(附錄二)以及宣傳海報設計，針對研究助理的訓練及同意書的簽署的教學。另外，開始設計網路版個案資料庫，可供特定加密帳號於網路登入，作個案資料之編輯輸入(如下圖)。

The screenshot displays the 'HiRiGroup LTBI databank - HDPD' web application. It features a sidebar with navigation tabs like '研究列表' and '基本資料 - SCC'. The main content area is divided into several sections:

- Personal Information:** Fields for '研究組別' (Study Group), '姓名' (Name: 張三), '生日' (Date of Birth: 1950/12/12), '性別' (Gender: 男), and '身高' (Height: 167).
- Medical History:** 'Underlying diseases' section with dropdowns for 'Cancer' (血液腫瘤), 'DM', 'Liver cirrhosis', and 'ESRD'. 'TB 暴露史' (TB Exposure History) section includes 'Old TB' and 'BCG scar'.
- Lab Results:** A table titled '活動性結核排除' (Active TB Exclusion) with columns for '篩檢日' (Screening Date), '呼吸道症狀' (Respiratory Symptoms), 'CXR有無' (CXR Present/Not), '日期' (Date), 'CXR報告' (CXR Report), '痰抹片陰性套數(1月內)' (Number of Negative Sputum Smears in 1 month), '痰培養陰性套數(1月內)' (Number of Negative Cultures in 1 month), and 'IGRA'.
- Clinical Outcomes:** A table with columns for '結束日期' (End Date), '失聯轉院' (Lost to Follow-up/Transferred), '死亡' (Death), '拒絕退出' (Refused to Exit), '拒絕退出原因' (Reason for Refusing to Exit), '追蹤期滿' (Follow-up Period Over), '診斷結核' (Diagnosed TB), and '結核診斷證據' (Evidence for TB Diagnosis).

研究助理招募

助理招募，本分項(324)與322以及323分項合聘一位實驗室研究助理，因本年度計畫經費撥予較晚，本計畫分項於2011年3月開始招募一名實驗室助理林小姐，於2011年4月開始上任，協助從事QuantIFERON-TB(克肺癆)及血清檢體收集的操作，於2011年5月，因為人事異動，改聘呂小姐為研究助理，迄今。另外，也與322分項主持人許嘉林醫師，合聘一位臨床研究助理，於2011年3月至4月中，聘助理邱小姐協助從事臨床事務。因邱小姐個人因素而離職，該助理職缺於今年六月由助理同仁何小姐接任，勝任至今，協助辦理受試者招募、同意書簽署、檢體採集等事務。

受試者招募

於2011年3月28日，本子計畫主持人(樹金忠醫師)與協同主持人到台大醫院腎臟內科同仁之研究會議報告，以招募討論為目的，並請腎臟內科專家給予指導，包括吳寬墩教授等專家，都給予本子計畫分項相當好的回饋及建議(報告檔案如附錄三)。

此後，於2011年4月開始於台大醫院洗腎室進行潛在受試者招募，發送說明書，

於洗腎室公佈欄張貼宣傳海報，徵詢潛在受試者意願，有意願者則進一步簽署試驗同意書，其血液檢驗測試，則統一由例行性透析患者抽血時，同時作檢體採取的動作。

結果

於 2011 年 4 月開始招募了第一批 60 位血液透析患者，在團隊的整體合作之下，往後陸續招募篩檢。本研究計畫在台灣大學附設醫院作招募收案，至目前為止共訪查了約 440 名長期洗腎患者，其中共有 234 名長期透析患者有意願加入本調查研究；且完成同意書的簽署，接受 QuantiFERON-TB(克肺癆)的篩檢。接受篩檢之個案，平均年齡為 60 歲，男性佔其中 114 位(49%)，平均已接受透析年齡 4 年。在透析方式分類中，共有 125 人為接受腹膜透析(Peritoneal dialysis, PD)，另 109 為接受血液透析(hemodialysis, HD)，如圖一。QuantiFERON-TB(克肺癆)的篩檢結果則呈現如圖二(A)，當中結果為陽性的人數佔了 42 位(17.9%)，陰性為 184 位(78.6%)，而另外 8 位(3.4%)結果為 indeterminate。在扣去 indeterminate 結果反應個案後，陽性反應個案約呈現 18.5%。對於上列檢驗結果，發送報告通知書(如附錄四)，由醫師團隊作個別通知解釋，針對陽性反應者，再次確認其結核暴露史，以及症狀以及近期 CXR 片結果，並無活動性結核病患者。在說明及報告內容中，針對 QuantiFERON-TB(克肺癆)的篩檢結果陽性者，說明應疑似潛伏結核感染並說明轉介胸腔結核病專家的門診，但由於目前衛生署並無條款規定，大部份的病友無症狀且有抗拒服藥的認知，故只有 6 位願意到專家門診諮詢，且在專家說明後目前尚無人接受預防性治療。而針對 indeterminate 的結果，共有 5 位接受邀請再次篩檢，5 位中，只有一位仍為 indeterminate，其它四位二次檢測為陰性結果。在目前已半年的追蹤之下，仍無個案發生活動結核病的發生。

在本研究起初的目的之一，即是針對不同洗腎模式的個案，作整理其特質分析與具有潛伏性結核感染的相關性。整理後的特徵如表一，接受血液透析的病患與接受腹膜透析個案來說，是年齡較大的(65 歲 vs. 55 歲, $p < 0.001$)，較多男性 (54% vs 44%, $p = 0.078$)，洗腎的時間較久，較多人具有惡性腫瘤病史，較少呼吸道症狀的抱怨，及較多胸腔影像上任何的異常病灶，較高的血紅素但較低的血液白蛋白數據 (p value 請參見表一)。其它特質如抽煙狀態、結核接觸史則是相似的。而在執行 QuantiFERON-TB(克肺癆)篩檢下，兩種洗腎方式的族群個案結果，陽性反應的分佈也是相似的(17% in HD group vs. 19% in PD group)，但是相較之下，結果為 indeterminate 的個案在 HD group 較為高 (5% vs. 2%) (圖二[B])。

若是以 QuantiFERON-TB(克肺癆)篩檢來作分類作比較(表二)，可發現 QuantiFERON-TB(克肺癆)測驗陽性的個案，基本特徵比其它結果的組別有年紀較高($p = 0.020$)，似乎有較高比例有惡性腫瘤的病史($p = 0.140$)，也較常有慢性咳嗽以及 CXR 片病灶表現，在實驗室數據上，則有較高的血紅素以及較高的白蛋白。而其它在性別，結核暴露史、抽煙、洗腎年齡等，都沒有顯著意義的差別。在以上 p 值 < 0.15 的可能相關因子納入作多重邏輯性迴歸分析(logistic regression)，結果如表三，可發現只有年齡是為唯一有意義獨立相關因子。在以年齡作橫軸，發現呈現潛伏結核感染為縱軸(圖三)，可觀察年齡越大，潛伏結核感染分布比例越多的曲線。

討論

在本研究中，可發現接受長期洗腎透析之患者，潛伏性結核感染的盛行率約 18.5%，而接受不同的透析模式(血液透析 vs 腹膜透析)，不影響潛伏性結核感染的情形，在分析長期透析族群中，與潛伏性結核感染相關因子中，在多變數迴歸分析下，年齡是最為相關的指標，而性別、抽煙、結核暴露史、惡性腫瘤以及洗腎模式皆沒有統計

學的相關性。

在台灣，慢性腎衰竭洗腎的人數分佈，是全世界第一[15]，該族群相關的問題，也相形重要。而法定傳染病中，結核病在台灣仍佔死亡率前幾名的頭銜，尤其對長期接受透析之患者而言，發生活動性結核時，因其症狀不典型的機率高，肺外結核的比例高，以及檢體採樣困難等原因，都會造成診斷的困難，使得治療的延後[16-17]。在過去結核菌素皮膚試驗 (tuberculin skin test) 診斷下，約有佔二到六成的病患皆有潛伏性結核病 [9-13]，而近來台灣高雄地區針對血液透析病患篩檢，發現 QFT-TB Gold 所診斷的潛伏性結核感染，達到 34%~40% 之高 [9, 11]。與台灣高雄榮總的數據比較，本研究的陽性比率相對比較偏低，有可能是台灣在 2006 年衛生署推動結核病十年減半政策後，本土的結核病發生率就開始下降，且衛生防疫也積極篩檢所造成的時間背景差距影響 (hidden time effect)，未來也需要多地多中心的研究來比較了解，是否與族群或當地結核特性相關，或。再者，該族群之盛行率，較之 AJRCCM 所報導的在結核暴露者的潛伏結核感染盛行 (11%) 為高 [28]，提醒我們針對長期洗腎病患，以我們台北的一家醫學中心資料為代表，潛伏結核的高盛行率約是 18% 之高，是需要我們所關注的，也可以提供台灣北部地區作參考，提醒我們政府及早提供該族群作全面篩檢，以及評估作預防性治療之可能。

以腹膜透析病患為主的潛伏結核感染資料，目前仍是相當有限。最近在西班牙 Palomar et al. 所分析的資料則佔有 18% 之高的潛伏結核感染 [29]。就我們研究的資料顯示，腹膜透析病患雖是只有一個月回診一次，不如血液透析動輒每週二到三次的群聚活動，但其 QuantiFERON-TB (克肺癆) 測驗陽性的比例卻是與血液透析病患的相當，皆為 18% 左右，也與 Palomar et al. 所發表的資料相當。因此，之前擔心血液透析者會有同一空間洗腎之互相傳染的推論，在很好的防疫政策下似乎就不成立。

而我們將潛伏性結核感染的相關因子作分析，發現年紀增長，是直接相關的最重要因子，每增長一年可能會增加 1.035 的風險，這是過去的高榮報告文獻結論相同 [11]。而之前被報導過因子之一 - "過去結核疾病史"，在本研究無法呈現有意義的原因可能在於本研究的族群較少有過去結核病史 (文獻為 10.8% [11]，而本資料為 1.7%)。我們可在本研究中 (圖三) 發現年紀大於 50 歲後，潛伏篩檢陽性率有直速上升之現象，由於年紀較長之病患，結核發病率為高，而且死亡率較大，因此在政府有限的資源下，可建議優先篩檢年齡為大於 50 歲的病友。

本研究的限制有幾點，首先是在於收案是在一醫學中心收案，故可能會有較多合併症的影響；而且為符合尊重病友參加意願，可能會有選擇性的偏誤；在病史以及結核暴露史方面，則是經由病歷記載以及口頭詢問的調查，有可能會有低估的情形；而在半年期的追蹤，算較短的時間，仍無法推估得到發病率的結果數值。

總結來說，在北台灣一醫學中心之洗腎族群調查，長期接受洗腎透析之患者其潛伏性結核感染的盛行率約為 18.5%，而血液透析與腹膜透析模式並不影響該 QFT-TB Gold 篩檢陽性。在多變數迴歸分析下，年齡增長是與 QFT-TB Gold 篩檢陽性最為相關的指標，尤其是大於 50 歲以上，陽性率急速上升到約二成以上。因此，建議在長期接受透析的病患 (不論血液或腹膜透析)，可以考慮對 50 歲以上病友優先定期作潛伏結核檢測。

結論與建議

- A. 在北台灣一醫學中心之洗腎中心調查，長期洗腎透析之患者其潛伏性結核感染的盛行率為 18.5%。建議將來提供加入非醫學中心的研究資料，以利研究的普及性。
- B. 接受血液透析與腹膜透析模式不同的兩組，其潛伏性結核感染的陽性率相似，並不因血液透析組會有經常性的群聚活動(每週二到三次的到醫院洗腎)，而有較高的潛伏性結核陽性率。因此，將來的篩檢並不因洗腎模式的不同而相異。
- C. 年齡增長在多變數迴歸分析下，是與 QFT-TB Gold 篩檢陽性最為相關的指標。可建議在資源有限之下，優先針對年紀大於 50 歲以上病友視為篩檢對象。

計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

針對長期接受洗腎的病患 - 結核發病的高危險族群，潛伏結核感染的篩檢，是早期診斷給予預防性治療或對該患者提高警界登號的第一步，界定該族群 18.5% 潛伏性結核感染次族群，可對台灣這個仍處在結核中高盛行區的國家，提供預防醫學角度上的探查。尤其是對大於 50 歲以上的病友，因為其潛伏感染陽性率上升，篩檢更是重要。

結核高危險族群的篩檢，只是結核防治的進一步，但不是最後一步，擴大篩檢範圍，並推廣預防性潛伏結核感染治療，正是下一步的目標，也是艱困的一步。因此，設定預防性治療的法源，使施予治療者有所本，在未來公共衛生政策上，是相當重要的建設。

參考文獻

1. Trends in tuberculosis--United States, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*; 2009; 58(10):249-53.
2. World Health Organization. Group at risk: WHO report on the tuberculosis epidemic. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1996.
3. Kuo SHS, Shi. W.Y., Lin T., Chow J.H., Chen Y.H., J.H. C, et al. Taiwan Tuberculosis Control Report 2009. 4th ed. Taipei: Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C (Taiwan); 2009.
4. Rose DN. Benefits of screening for latent Mycobacterium tuberculosis infection. *Arch Intern Med*; 2000; 160(10):1513-21.
5. Jick SS, Lieberman ES, Rahman MU, Choi HK. Glucocorticoid use, other associated factors, and the risk of tuberculosis. *Arthritis Rheum*; 2006; 55(1):19-26.
6. Smirnoff M, Patt C, Seckler B, Adler JJ. Tuberculin and anergy skin testing of patients receiving long-term hemodialysis. *Chest*; 1998; 113(1):25-7.
7. Lundin AP, Adler AJ, Berlyne GM, Friedman EA. Tuberculosis in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Am J Med*; 1979; 67(4):597-602.
8. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. American Thoracic Society. *MMWR Recomm Rep*; 2000; 49(RR-6):1-51.
9. Lee SS, Chou KJ, Su IJ, Chen YS, Fang HC, Huang TS, et al. High prevalence of latent tuberculosis infection in patients in end-stage renal disease on hemodialysis: Comparison of QuantiFERON-TB GOLD, ELISPOT, and tuberculin skin test. *Infection*; 2009; 37(2):96-102.
10. Yanai M, Uehara Y, Takeuchi M, Nagura Y, Hoshino T, Hayashi K, et al. Evaluation of serological diagnosis tests for tuberculosis in hemodialysis patients. *Ther Apher Dial*; 2006; 10(3):278-81.
11. Lee SS, Chou KJ, Dou HY, Huang TS, Ni YY, Fang HC, et al. High prevalence of latent tuberculosis infection in dialysis patients using the interferon-gamma release assay and tuberculin skin test. *Clin J Am Soc Nephrol*; 2010; 5(8):1451-7.
12. Chung WK, Zheng ZL, Sung JY, Kim S, Lee HH, Choi SJ, et al. Validity of interferon-gamma-release assays for the diagnosis of latent tuberculosis in haemodialysis patients. *Clin Microbiol Infect*; 2009.
13. Triverio PA, Bridevaux PO, Roux-Lombard P, Niksic L, Rochat T, Martin PY, et al. Interferon-gamma release assays versus tuberculin skin testing for detection of latent tuberculosis in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*; 2009; 24(6):1952-6.
14. Chou KJ, Fang HC, Bai KJ, Hwang SJ, Yang WC, Chung HM. Tuberculosis in maintenance dialysis patients. *Nephron*; 2001; 88(2):138-43.
15. System USRD. USRDS 2009 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, ; 2009.
16. Venkata RK, Kumar S, Krishna RP, Kumar SB, Padmanabhan S. Tuberculosis in chronic kidney disease. *Clin Nephrol*; 2007; 67(4):217-20.
17. Fang HC, Lee PT, Chen CL, Wu MJ, Chou KJ, Chung HM. Tuberculosis in patients with end-stage renal disease. *Int J Tuberc Lung Dis*; 2004; 8(1):92-7.
18. Tuberculosis transmission in a renal dialysis center--Nevada, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*; 2004; 53(37):873-5.
19. Wang L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, FitzGerald JM. A meta-analysis of the

- effect of Bacille Calmette Guerin vaccination on tuberculin skin test measurements. *Thorax*; 2002; 57(9):804-9.
20. Lai CC, Tan CK, Chou CH, Hsu HL, Liao CH, Huang YT, et al. Increasing incidence of nontuberculous mycobacteria, Taiwan, 2000-2008. *Emerg Infect Dis*; 2010; 16(2):294-6.
 21. Sester M, Sester U, Clauer P, Heine G, Mack U, Moll T, et al. Tuberculin skin testing underestimates a high prevalence of latent tuberculosis infection in hemodialysis patients. *Kidney Int*; 2004; 65(5):1826-34.
 22. Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med*; 2008; 149(3):177-84.
 23. Simsek H, Alpar S, Ucar N, Aksu F, Ceyhan I, Gozalan A, et al. Comparison of tuberculin skin testing and T-SPOT.TB for diagnosis of latent and active tuberculosis. *Jpn J Infect Dis*; 2010; 63(2):99-102.
 24. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med*; 2004; 170(1):65-9.
 25. Nolte FS, Metchock B. Mycobacterium. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1995. p. 400-37.
 26. O'Sullivan CE, Miller DR, Schneider PS, Roberts GD. Evaluation of Gen-Probe amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test by using respiratory and nonrespiratory specimens in a tertiary care center laboratory. *J Clin Microbiol*; 2002; 40(5):1723-7.
 27. Lalvani A, Pathan AA, McShane H, Wilkinson RJ, Latif M, Conlon CP, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med*; 2001; 163(4):824-8.
 28. Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, Niemann S, Nienhaus A. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the development of active tuberculosis disease after recent infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med*; 2008; 177(10):1164-70.
 29. Palomar R, Arias Guillen M, Robledo C, Agüero R, Agüero J, Rodríguez C, et al. [Detection of latent tuberculosis infection in peritoneal dialysis patients: new methods]. *Nefrologia*; 2011; 31(2):169-73.

圖、表

1、 圖

Figure 1. 接受篩檢之病患，當時接受的透析方式

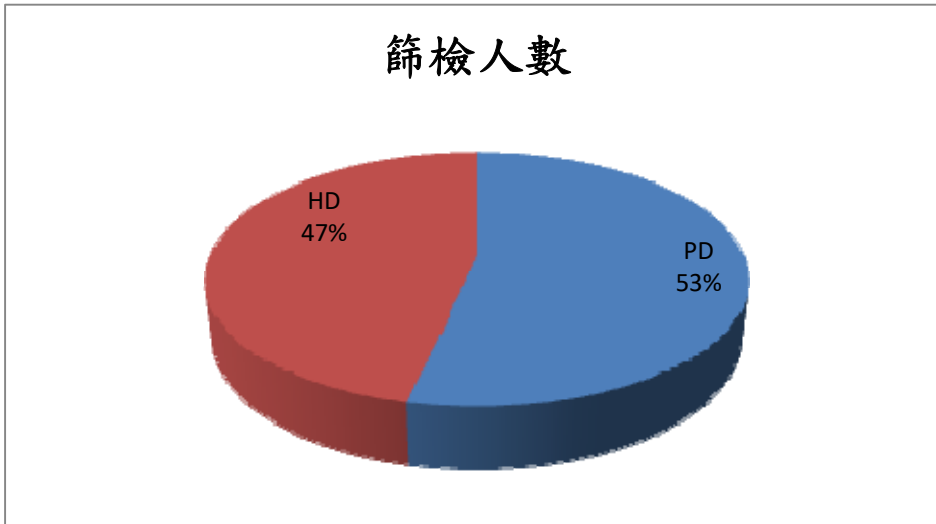
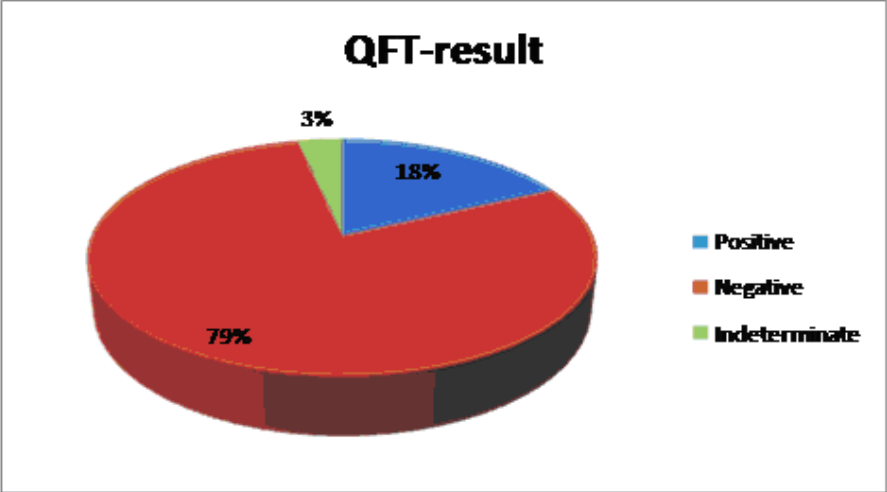


Figure 2.病患篩檢後得到的 QFT-TB Gold 的結果

(A)



(B)

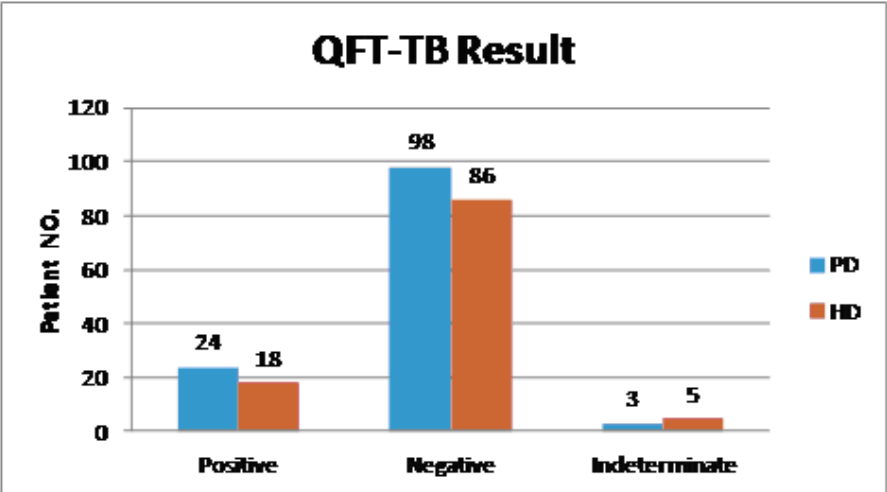
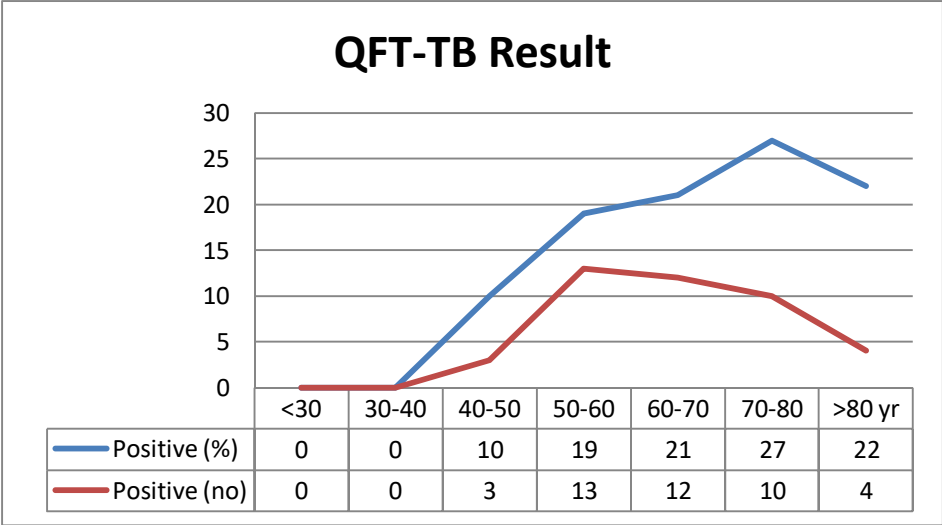


Figure 3. 長期洗腎族群在篩檢潛伏結核感染時為陽性，以年齡大小作依據的分布情形。



2、 表

Table 1. Clinical characteristics of patients with different dialysis mode

	PD group (N = 125)	HD group (N = 109)	P value
Age: year, mean (SD)	55 (12.2)	65 (13.7)	< 0.001
Male gender	55 (44%)	59 (54%)	0.078
Smoking status			0.379
Non-smoker	103 (82%)	82 (75%)	
Ex-smoker	17 (14%)	22 (20%)	
Current smoker	5 (4%)	5 (5%)	
Dialysis age, years, mean (SD)	4.1 (3.9)	5.7 (4.8)	0.006
Underlying co-morbid condition			
Malignancy	5 (4%)	16 (15%)	0.004
Diabetes mellitus	23 (18%)	28 (26%)	0.178
Cirrhosis of liver	3 (2.4%)	1 (1%)	0.364
Autoimmune disease	4 (3%)	4 (4%)	0.844
Prior TB history	1 (1%)	3 (3%)	0.250
TB exposure history	16 (13%)	14 (13%)	0.992
Symptoms at visit			< 0.001
Chronic cough with sputum	36 (29%)	7 (6%)	
Dyspnea	1 (1%)	2 (2%)	
Constitutional symptoms	1 (1%)	1 (1%)	
Chest radiograph around visit			< 0.001
No lung lesion	102 (82%)	61 (57%)	
Lesion, not compatible with TB	22 (18%)	43 (40%)	
Lesion, compatible with old TB	0	3 (3%)	
Hemoglobin	10.2 (1.6)	10.7 (1.7)	0.021
Serum albumin	4.3 (0.4)	3.9 (0.4)	< 0.001

QFT status			0.591
Positive	24 (19%)	18 (17%)	
Negative	98 (78%)	86 (79%)	
Indetermined	3 (2%)	5 (5%)	

PD = peritoneal dialysis, HD = hemodialysis, TB = tuberculosis

Data are no. (%), unless otherwise indicated.

Table 2. Clinical characteristics of patients with different result of QFT-TB Gold test

	QFT-positive (N = 42)	QFT-negative (N = 184)	QFT-indeterm. (N = 8)	P value
Age: year, mean (SD)	64.7 (11.1)	58.6 (14.2)	64.6 (12.0)	0.020
Male gender	21 (50%)	88 (48%)	5 (63%)	0.707
Smoking status				0.472
Non-smoker	31 (74%)	147 (80%)	7 (88%)	
Ex-smoker	9 (21%)	30 (16%)	0	
Current smoker	2 (5%)	7 (5%)	1 (13%)	
Dialysis age, years, mean (SD)	4.4 (3.4)	4.9 (4.6)	8.3 (5.9)	0.171
Underlying co-morbid condition				
Malignancy	7 (16%)	13 (7%)	1 (13%)	0.140
Diabetes mellitus	40 (22%)	10 (24%)	1 (13%)	0.777
Cirrhosis of liver	1 (2%)	3 (2%)	0	0.879
Autoimmune disease	1 (2%)	7 (4%)	0	0.778
Prior TB history	2 (5%)	2 (1%)	0	0.235
TB exposure history	8 (19%)	22 (12%)	0	0.252
Symptoms at visit				< 0.001
Chronic cough with sputum	10 (24%)	33 (18%)	0	
Dyspnea	1 (2%)	1 (1%)	1 (13%)	
Constitutional symptoms	1 (2%)	0	1 (13%)	
Chest radiograph around visit				0.002
No lung lesion	26 (62%)	135 (75%)	2 (25%)	
Lesion, not compatible with TB	16 (38%)	44 (24%)	5 (63%)	
Lesion, compatible with old TB	0	2 (1%)	1 (13%)	
Hemoglobin	10.9 (1.7)	10.4 (1.6)	9.4 (2.0)	0.038
Serum albumin	4.2 (0.3)	4.1 (0.4)	3.4 (0.4)	< 0.001
HD patients	18 (43%)	86 (47%)	5 (63%)	0.591

PD = peritoneal dialysis, HD = hemodialysis, TB = tuberculosis

Data are no. (%), unless otherwise indicated.

Table 3. Factors significantly associated with latent TB infection diagnosed by QFT-TB Gold method in multivariate logistic regression

Characteristics	Multivariate	
	<i>p</i> value	OR (95% C.I.)
Age, per 1 year increment	0.010	1.035 (1.008-1.063)
Cancer, <i>presence vs. absence</i>	0.101	
Hemoglobin, per 1 g/dL increment	0.134	
Serum albumin, per 1 g/dL increment	0.261	
Symptoms*	0.171	
Any lesion by chest radiograph	0.488	

* Presence of chronic cough, dyspnea or constitutional symptoms

附錄

潛伏受試者說明書

親愛的病友您好

由於台灣結核病仍盛行，每年約 **1 萬 3 千人(註一)**發生活動性肺結核。其中，接受**長期透析**的患者，是得到**結核病的高危險群**。在國外，十年前就有經過美國食品衛生局通過的檢測，簡單血液採檢之後，就可以瞭解您體內是否可能有結核菌潛伏。最近台灣也核可了這項檢驗 - QuantiFERON – TB (註二)，但健保並沒有給付，需自費檢驗。目前，因為臺大醫院結核病團隊認為長期透析的病人確實有需要進行這項篩檢，以了解自身的風險性，並長期追蹤。於是特別申請經費，為大家**”不收費”篩檢、追蹤**。這項檢查，每次只需要 5 到 6 c.c.的血，就可以了解您體內是否有結核菌潛伏。

若您希望進一步了解自己的健康狀況，參加篩檢，請您將意願回條交回我們的團隊，讓我們為您服務。

臺大醫院 樹金忠 醫師 敬上

電話: 02-23123456 轉 63376

地址: 台北市中山南路七號

註一、引用自臺灣疾病管制局 2010 報告資料 (Taiwan Tuberculosis Control Report 2010; Centers for Disease Control, Department of Health, 2010)。

註二、此檢驗名稱為 QuantiFERON – TB Gold In-Tube，由 Cellestis 公司製造。通過以下認證，包括臺灣衛署醫器輸字第 020770 號；美國 FDA 認證字號: P010033；以及歐盟 CE 認證。

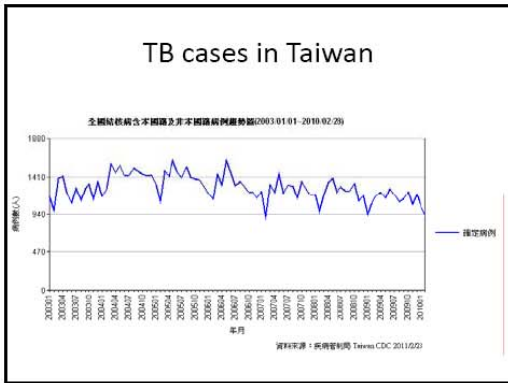
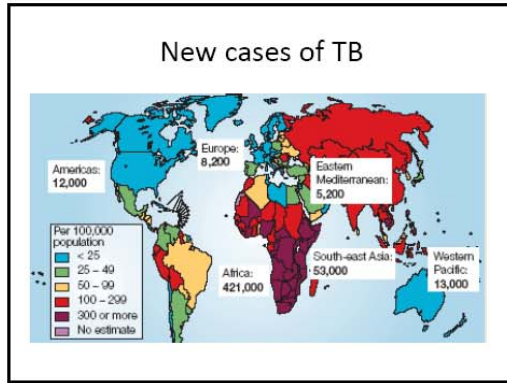
=====

回條

姓名: _____

- 意願: 1、願意參加
- 2、考慮中，但想進一步了解
- 3、不願參加

Surveillance and follow-up for latent TB in patients receiving long-term dialysis
 樹金忠/吳允升/王振源/李麗娜



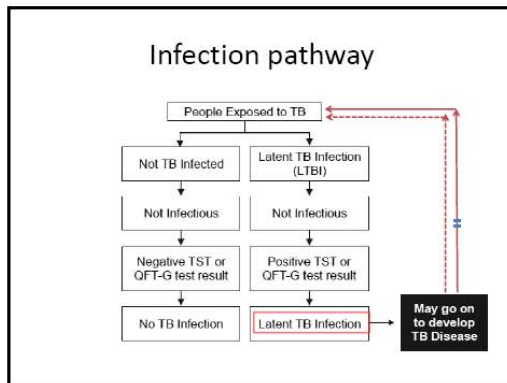
TB incidence in Taiwan

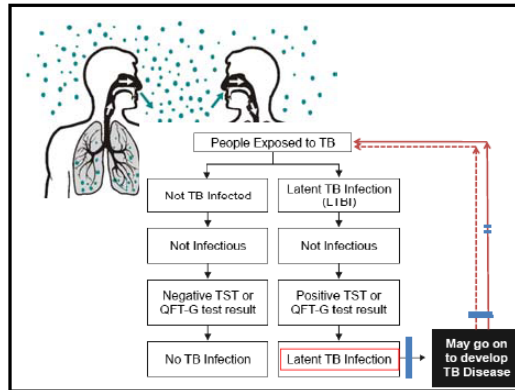
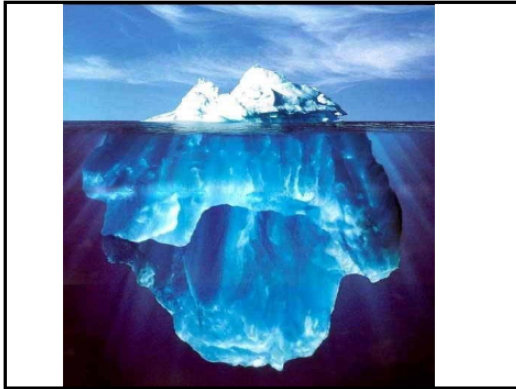
Incidence and percent change of new TB cases, 2005-2009

	2005 (baseline)		2006		2009		Percent change of cases, 2005-2009	Percent change of rate, 2005-2009
	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate		
Taiwan	16 472	72.5	14 265	62.0	13 336	57.8	-19.0	-20.3
Taipei Area	4 464	61.4	3 980	53.9	3 729	50.3	-16.5	-18.1
Taipei City	1 388	67.0	1 178	44.0	1 113	47.4	-16.0	-16.8
Taipei County	2 371	63.7	2 147	56.3	2 104	54.6	-11.3	-14.3
Yilan County	361	78.1	360	78.2	280	60.7	-22.4	-22.3
Kinmen County	10	14.8	25	30.1	21	23.5	110.0	58.6
Keelung City	332	84.7	268	68.8	211	54.3	-36.4	-35.9
Lienchiang County	4	40.6	2	20.3	3	30.5	-25.0	-24.9

CDC. Taiwan Tuberculosis Control Report 2010

- ### In patients with active TB
- Mortality: 3.3% (2009 data from CDC)
 - Treatment course : at least six months
 - Drug side effects
 - Isolation if smear positive
 - Risk for disseminating the pathogen





結核病防治診斷治療暨政策評估研究 - 得病高危險群研究

疾管局/生策會

Risk factors for developing TB

- HIV
- Prior TB infection
- Corticosteroids and immunosuppressive therapy
- Diabetes mellitus
- Severe kidney disease
- Certain types of cancer (e.g., leukemia, Hodgkin's disease, or cancer of the head and neck)
- Low body weight (10% or more below ideal)

Active TB in dialysis patients

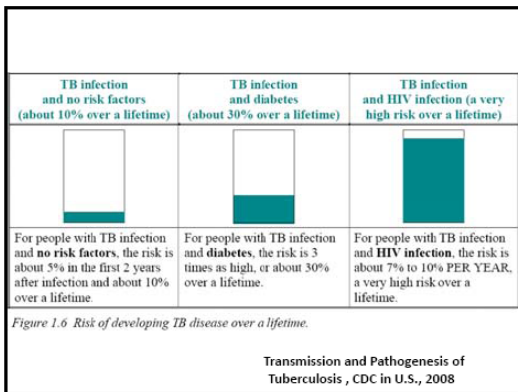
- TB in HD patients is **10 to 20** times higher than general population.
- Of 790 CAPD patients, 38 have TB in a average 22 months after starting PD.
- Of the 925 HD patients screened from 7 different centers, 31 (3.35%) were found to have tuberculosis.

Lundin et al, Am J Med. 1979 ;67:597-602
Lui SL, et al, Am J Kidney Dis. 2001 Nov;38(5):1055-60.
Kazancioglu R et al., Hemodial Int. 2010 Oct;14(4):505-9.

TB in patients with dialysis

- Causes of high incidence
 - immune dysfunction
 - inter-group spread.
 - latent TB in dialysis patient vs. healthy subjects: 40% vs. 12.5%
 - Easy reactivation from latent TB

Lundin et al, Am J Med. 1979 ;67:597-602
Lee et al, Infection 2009; 37: 96-102



Current investigation of LTBI in dialysis

- Mainly in HD patients
- All cross sectional study
- No long-term follow up

Questions and Aims

- What's the prevalence of LTBI dialysis patients in northern Taiwan (HD and PD).
- What's the incidence of active TB from the LTBI dialysis patients in comparing with those without LTBI.
- How to predict active TB in dialysis patients with LTBI.

Methods

- Place: NTUH and its YL branch
- Duration: 2011 – 2014
- Follow-up time: 3 years
- Prospective observation study
- Outcome: occurrence of active TB

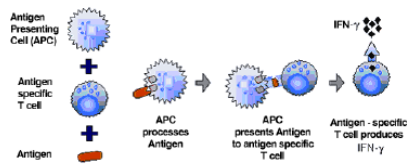
Methods

- Inclusion:
 1. Receiving dialysis more than 3 months
 2. Age ≥ 18 years
- Exclusion:
 1. HIV positive
 2. Receiving chemotherapy in recent 3 months
 3. Life expectancy less than 6 months
 4. Having active TB in recent 3 years

Methods

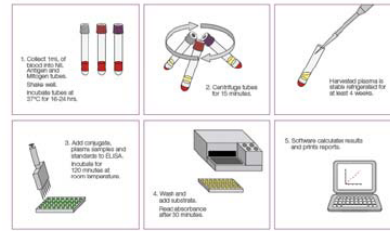
- Number: 150 / year
- Clinical data
- Laboratory data
 - 5 ml whole blood for
 1. QFT-TB in tube
 2. Other cytokines and serum marker

Mechanism of IGRA



Detection of LTBI

- An interferon-gamma release assay (IGRA)



Detection of LTBI

- Tuberculin skin test (TST)



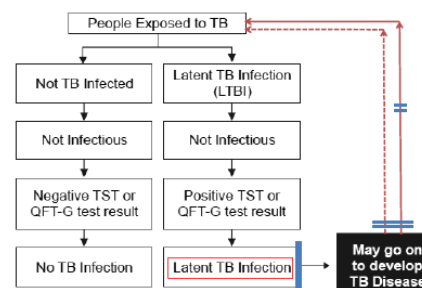
Methods

- If a patient has QFT-TB (+), we
 1. review clinical and chest film;
 - refer to TB consultant if needed.
 2. follow QFT-TB 6 months later; and
 3. visit the patient every month.
- If QFT-TB (-), we follow the QFT-TB test six months later.

Outcome measurement

- **Prevalence of LTBI** in dialysis patients
 - Compare it between patients with HD and PD
- **Active TB** in the following 3 years
 - Compare the incidence between LTBI (+) and LTBI (-)
 - Compare the clinical and serological predictors for active TB in patients with LTBI (+)

In the future



附錄、結果通知書

親愛的病友 _____ 您好:

台大結核團隊有榮幸為您服務，您所參與的“透析病患潛伏的結核病篩檢”，本團隊為您檢測的“克肺癆 (QuantiFERON-TB)”，結果呈現**陽性反應**。

此結果表示您的體內可能有結核菌潛伏，但目前沒有發病。若您有任何呼吸道症狀(如咳嗽超過二週、不明原因發燒、體重減輕)，可與我們聯絡作密切追蹤。若沒有則不必太過擔心，密切觀察即可，我們建議您每半年追蹤“克肺癆”檢查。目前雖然有“預防性治療”，但衛生署不強制，會尊重個人的意願，若您希望進一步了解，可以與台大結核團隊聯絡作後續說明。

祝 健康 快樂

台大結核團隊 樹金忠 醫師
聯絡電話 02-23123456 轉 63376

親愛的病友 _____ 您好:

台大結核團隊有榮幸為您服務，您所參與的“透析病患潛伏的結核病篩檢”，本團隊為您檢測的“克肺癆 (QuantiFERON-TB)”，結果呈現**陰性反應**。

此結果表示您的體內沒有結核菌潛伏。若您有任何呼吸道症狀(如咳嗽超過三週、不明原因發燒)，可與我們聯絡作密切追蹤。若沒有則不必太過擔心，密切觀察即可。若有任何疑問，可與台大結核團隊聯絡。

祝 健康 快樂

台大結核團隊 樹金忠 醫師
聯絡電話 02-23123456 轉 63376

分項計畫 5： 建構第二型糖尿病患內潛伏感染結核病者，預防
感染肺結核方案

摘要

肺結核的盛行率逐年提高，在眾多的分析中都發現糖尿病患是肺結核的高危險族群。在防疫的觀點上，建構起糖尿病患中潛伏結核感染者預防感染結核病的標準方案對防疫系統的建置是刻不容緩的事情。但過去的文獻對於糖尿病潛伏結核感染情形之相關研究卻付之闕如，本研究之目的即為找出糖尿病人潛伏結核感染之發生情形，並針對檢驗陽性的患者進行預防性治療與後續之追蹤。

本研究共篩檢了 367 名 30-70 歲的第二型糖尿病病人，排除了胸部 X 光已有肺結核病灶、懷孕情形、或是有酗酒、黃疸、嚴重肝功能異常(ALT>3X)與慢性腎臟疾病第四與第五期病史患者後，共 342 名個案接受丙型干擾素釋放試驗 (interferon gamma release assays, IGRA) 以 QuantiFERON-TB Gold In-tube (QFT-IT) 方法檢測，所有納入者並接受結構式問卷以分析其基本資料。

QFT-IT 檢測陽性病患，再隨機分派為研究組與對照組。雙盲給予預防性 INH 300mg QD 或安慰劑六個月治療，並同時接受 pyridoxine supplementation 50 mg QD 治療以預防神經病變。追蹤病患發生肺結核、肝功能異常與神經病變、與藥物副作用比率。

接受 QFT-IT 檢測的 342 名個案中，男性共 186 人，佔 54.4%；女性共 156 人，佔 45.6%。檢驗結果 QFT-IT 陽性者共 101 人，佔 29.5%；陰性者共 241 人，佔 70.5%。已進行雙盲藥物治療者共 42 位，其中 1 位因過敏退出治療，另 2 位不願意繼續接受治療，目前實際接受治療人數為 39 位。其餘 QFT-IT 陽性者將陸續接受雙盲藥物治療六個月，並持續追蹤其後肺結核感染之情形。

比較分析 QFT-IT 陽性與陰性者間的差異，在性別、體重、教育程度、罹患糖尿病時間長短、是否抽菸、是否曾罹患癌症、家族中是否有人曾罹患結核病、是否曾有肺結核病患接觸史及其每日睡眠時間長短等項目上二者間並無差異。最近三年內病人最高的糖化血色素值及最近三年內平均糖化血色素值在 QFT-IT 陽性與陰性兩組間也沒有差異。但在病人的年齡及糖尿病發病年齡的分析則可見 QFT-IT 陽性者與陰性者間有顯著差異。QFT-IT 陽性者平均年齡 56.27 歲，陰性者平均年齡 51.61 歲，統計上有顯著差異，P 值小於 0.001。若以 55 歲為分界，年齡在 55 歲以上 QFT-IT 陽性者共 68 人，佔 40.2%，陰性者共 101 人，佔 59.8%；年齡在 55 歲以下 QFT-IT 陽性者共 33 人，佔 19.1%，陰性者共 140 人，佔 81.9%，統計上顯著差異，P 值小於 0.001。QFT-IT 陽性者糖尿病發病年齡平均 49.34 歲，陰性者糖尿病發病年齡平均 45.58 歲，統計上顯著差異，P 值小於 0.001。若以 50 歲為分界，糖尿病發病年齡在 50 歲以上 QFT-IT 陽性者共 54 人，佔 38.6%，陰性者共 86 人，佔 61.4%；糖尿病發病年齡在 50 歲以下 QFT-IT 陽性者共 47 人，佔 23.3%，陰性者者共 155 人，佔 76.7%，統計上有顯著差異，P 值為 0.002。

本研究初步結論為第二型糖尿病人可能為潛伏結核感染之高危險群，本研究並未見到潛伏結核感染與血糖之高低或糖尿病發病時間長短間之相關性。

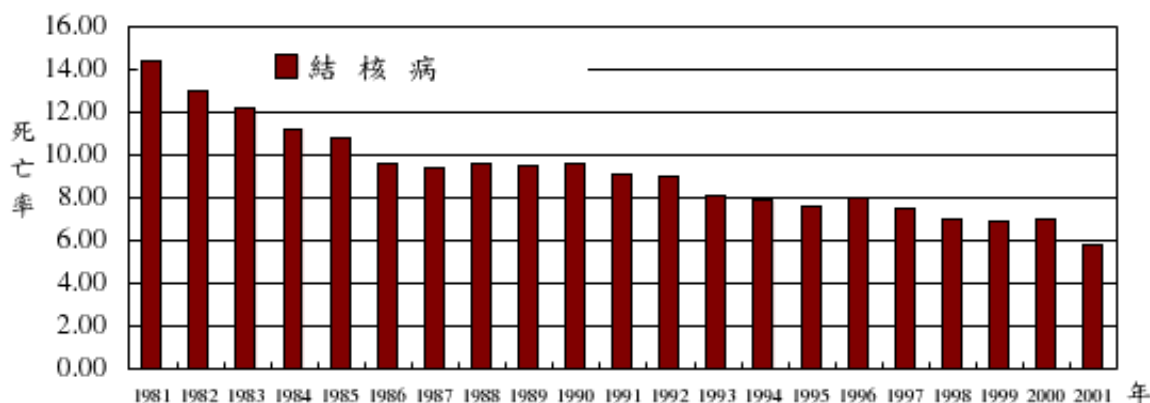
另外 55 歲以上的糖尿病人或糖尿病發病年齡在 50 歲以上者，為潛伏結核感染的高危險群。可針對這一族群之病患，利用 interferon gamma release assays (IGRA) 以 QuantiFERON-TB Gold In-tube (QFT-IT) 方法檢測找出其中潛伏結核感染之個案，持續追蹤或施行預防性藥物治療，以達到預防糖尿病高危險群發生肺結核感染之目的。

關鍵詞：糖尿病、肺結核，潛伏感染

前言

世界衛生組織指出，1999 年全球共有三百萬人死於結核病，創下人類有史以來結核病死亡人數最高的記錄。若不立即採取行動，這場結核病的災難將會繼續擴大。

根據行政院衛生署疾病管制局的資料顯示，我國結核病罹患率是美國的十倍以上 [1]，無論是發生率或死亡率，比起先進國家都還落後很多。結核病在我國屬於第三類法定傳染病，歷年來衛生署疾病管制局對於結核病之病例都有詳細的登錄與追蹤，在肺結核疾病的防治上也有成效。其盛行率與死亡率都有下降的趨勢，自民國 74 年起，結核病已退出我國十大死因之列，但仍佔國內死因排名第十二位。從 75 年起結核病的死亡率已下降到每十萬人口 10 人以下，但是最近十年卻停滯不動，並沒有明顯的繼續下降 (圖一) [2]。民國 90 年結核病全年死亡人數為 1,299 人，死亡率為每十萬人口 5.81 人 [2]，可見國內結核病疫情的控制仍有需要改善的空間。



圖一、資料來源：行政院衛生署統計資料，2001

根據研究，糖尿病為罹患肺結核之危險因子，其相對危險比值 (Relative Risk) 分別為 4.16 及 70 [3]，糖尿病患者併發肺結核的現象已逐漸成為肺結核防治工作上的重大挑戰。結核病的易感易發因素，指造成病患容易感染、發生或罹患結核病之因素。瞭解這些因素有助於加深對結核病病因、發病和流行的理解，對結核病的臨床診治和預防控制都有重要意義。任何年齡、任何種族的人，不分男女老少，都可能得到結核病。只要一個人受到結核菌的感染，在身體抵抗力較差時，就比較容易發病 [4]。

糖尿病是一種慢性之新陳代謝與血管異常的疾病，可使身體免疫力下降，對疾病感染的抵抗力減弱。其發生的原因是由於胰島素分泌不足或胰島素作用較差引起碳水化合物、脂肪、與蛋白質的代謝異常。通常第一型糖尿病是一種自體免疫疾病，患者較為年輕且跟遺傳因素有密切之關係；第二型糖尿病則是因為胰島素分泌不足及身體產生胰島素阻抗性所導致，身體對胰島素無法產生良好的反應，所以無法正常代謝血糖 [5,6]。如果糖尿病控制不佳，長期高血糖使得免疫細胞的殺菌力減弱，且高血糖環境將有利於細菌生長繁殖。依據國內衛生署的統計，民國九十年糖尿病死亡率為每十萬人口死亡數

40.79 人 [2]。相較於過去二十年，因糖尿病併發症而致死的人數足足增加五倍之多。由於醫療的進步與公共衛生的改善，使得國人平均壽命延長，糖尿病的人數正在逐漸地增加。糖尿病目前名列為國內十大死因的第五名。

根據台灣地區於西元 1985 年到 1996 年之間的流行病學調查顯示，糖尿病盛行率介於 4.9%到 9.2%，遠高於中國大陸 (1.6%)、新加坡 (4.6~4.9%) 和香港 (7.7%)，僅次於模里西斯 (11.7%)。全世界糖尿病之盛行率逐年攀升，根據 AMOS 等學者預估至西元 2010 年，全球糖尿病人口增加率將高達 50%左右，而此種增加趨勢又以亞洲地區最為明顯。西元 1997 年亞洲地區糖尿病人數約為一億兩千萬人，到了西元 2001 年，糖尿病人數已增加到一億七千六百多萬人左右，增加的幅度在四年內約達 40%，為全球糖尿病人數增加幅度最大的區域。因此亞洲地區的糖尿病問題不容忽視。隨著社會經濟的繁榮及國民生活型態的改變，目前全球已有一億三千五百萬的糖尿病人口。印度的糖尿病人口成長率居全球之冠，中國、美國緊接於後 [5]。

糖尿病與肺結核均是當今人類最常見、最多發的疾病。二者常並存，合稱為糖尿病結核。多年前，人類即已發現糖尿病患者較易罹患肺結核現象，而許多早期的研究中，也呈現了糖尿病與肺結核之間的關聯性 [7,8]。Root 在 1934 年首先觀察到糖尿病人較非糖尿病者更容易罹患結核病，而結核病人比起非結核病者罹患糖尿病的頻率卻並沒有增加 [9]，糖尿病人容易感染結核病才使得二者比率增高。

根據台中健康暨管理學院龔佩珍教授研究 [10]，以 2004 年中部地區的健保資料庫為分析基礎，追蹤糖尿病新病人在一到四年內併發肺結核的危險性，結果比一般人高出九成三到九成七。如果病人同時有抽菸，其風險更高。糖尿病患者因其醣、蛋白質、脂肪代謝紊亂，以致營養不良。當血糖升高及組織內糖含量增高時，形成的酸性環境破壞了組織抵抗力，使抗體形成減少，免疫功能下降，病人白蛋白減少，均有利於結核菌的繁殖與生長。另外糖尿病人常伴有維生素 A 缺乏，也削弱了呼吸道的抵抗力 [11]。過去認為肺結核對糖尿病只有間接影響，並無直接影響，但隨著分子生物學的發展，最近中國大陸的研究發現，糖尿病與肺結核並存的患者，血中淋巴細胞明顯高於正常人。這些過多的淋巴細胞與某些細胞結合可直接損傷胰島細胞，對於第一型糖尿病的發生與發展有重要的作用 [12]。疾管局的資料顯示，台灣每年新增近一萬六千名結核病人，其中三千七百到四千人同時患有糖尿病，約佔百分之二十二。結核病是台灣頭號傳染病，尤其因為生活習慣與環境的影響，糖尿病的人數有快速增加的趨勢，結核病合併糖尿病的患者也在逐漸增加中。

糖尿病合併結核病的臨床表現與單純糖尿病或單純肺結核不同，治療的難度也不像單一的糖尿病或單一的肺結核那樣簡單。糖尿病與結核病關係密切，二者常互相促進，互相影響。糖尿病病人的血糖代謝失調可以促發結核病，並導致結核病的迅速進展，及抗結核治療難以奏效。由於抵抗力較差，其病情常較嚴重，胸部 X 光上顯示病灶侵犯的範圍較為廣泛。同時由於活動性及進展中的結核病能造成糖尿病人糖代謝紊亂，更使血糖難以控制，也導致結核病病情更加惡化。治療上，必須雙管齊下，若僅給予結核藥物而不控制血糖，則結核病的治療效果必然不佳。普通的開放性肺結核病人，通常服藥兩週，傳染力即迅速降低，但是結核病併糖尿病的患者，時間就需拉長，視個人情況而異，整個療程至少要九個月到一年以上，如若是再出現抗藥性的肺結核糖尿病患，治療

就更加的棘手。然而糖尿病併結核病的病人，使用抗結核藥物治療的副作用更明顯，因為病人難以忍受肝臟、腸胃、皮膚等副作用，服藥的順從性變差，還要花心力換藥，療程就更拉長，若是病患任意中斷服藥，還可能助長抗藥性。

根據結核菌的感染機制，健康人受到結核菌感染後，通常並不會立即發生結核病之症狀，結核菌可長期潛存在宿主体內伺機發病（endogenous reactivation）。一般人受到感染後一生中約有 5—10%機會發病，感染後一年內的發病機率最高，隨著時間的進程，發病機率則會遞減。諸多國際間之研究結果顯示，與傳染性肺結核個案之接觸者如為幼童，終其一生的發病機率高達 17%，較成人接觸者發病機率的 5%高許多。本國對接觸者之追蹤資料亦顯示，愈年幼之接觸者，感染後之發病機率愈高，尤其是學齡前之幼童約為同齡者發病機率的 240 倍，而成人則為同齡者之 8~50 倍。加拿大資料顯示，若不提供兒童接觸者接受潛伏結核感染之治療，則其後會轉為個案者多在前 2 年內發生，而 5 歲以下之兒童則為發病之主要年齡群。此外，HIV 陽性者受到結核菌感染後，發病機率亦較一般族群高很多，每年約有 10%的發病機會。在受到感染後到發病前的這一段期間（即潛伏結核感染期, Latent tuberculosis infection, LTBI），體內潛伏存活的結核菌數量並不多，若施予潛伏結核感染之治療，則可有效減少日後發病的機會。

針對潛伏結核感染者之治療是進一步根除結核病的重要策略。台灣是結核病中高負擔國家，當病人發現率和治療成功率隨著都治計畫及接觸者檢查的落實持續改善與進步，此時選擇性的潛伏結核感染之治療(Targeted LTBI treatment)可作為輔助策略。

丙型干擾素釋放試驗（interferon gamma release assays, IGRA）中 QuantiFERON-TB Gold In-tube (QFT-IT) method 是美國食品藥物管理局於 2004 年通過可用於診斷潛伏性結核病患的試驗方法 [13]，近幾年來已有相當多的文章討論 QFT-IT 試驗與結核菌素皮膚測驗，如 Brock 等學者嘗試比較 QFT-IT 試驗與結核菌素皮膚測驗 [14]，在沒有接種過卡介苗疫苗的樣本中，結核菌素皮膚測驗與 QFT-IT 試驗有高達 94% 以上的一致性。而 QFT-IT 試驗在高危險或低危險族群中不管是否接受過卡介苗疫苗，其陽性率皆非常接近，代表 QFT-IT 試驗較不受卡介苗疫苗的影響，可運用於台灣地區這樣高度接種卡介苗疫苗注射的國家。Mori 此位日本學者於 2006 年 12 月曾來台灣演講，他曾運用 QFT-IT 試驗來檢驗活動性肺結核感染的病人，他們發現敏感度可達 89%，特異性高達 98.1%，對於 80 歲以上的老人，敏感度仍可達 80%。以前潛伏結核感染的偵測主要使用結核菌素測驗，然而台灣絕大部分的人都接種過卡介苗，檢驗結果易受干擾，且結核菌素測驗需要病患二次回診與主觀的判斷。

糖尿病族群有較高的結核病感染率，受到感染後的治療效果也較差。因此如能針對該高危險群於潛伏結核感染期即給予預防治療，對結核病的防疫系統將是一大補強，本計畫便是針對糖尿病患篩選潛伏結核感染族群給予預防治療，並進一步分析治療成效與副作用以供後續建立防疫系統參考。

材料與方法

本研究共有 367 位合於篩檢條件之第二型糖尿病病人參與篩選，在接受血液 GOT、GPT、Total bilirubin、Creatinine、HbA1c 檢測及胸部 X 光檢查並經胸腔科專科醫師判讀後，排除 25 人不符合納入條件，共 342 人進入本試驗，其中 186 名男性(54.4%)，156 名女性(45.6%)。進入試驗的受試者由研究人員進行訪談與收集病史，並簽署受試者同意書。

受試者納入條件包括：

1. 第二型糖尿病患者。
2. 年齡介於 30 歲到 70 歲之間。
3. 最近半年內血糖穩定，糖化血色素 (HbA1c) 差異不超過 2%。
4. 所有受試者須簽署受試者同意書。

如有下列情形者則排除於此實驗：

1. 有結核病病史或肺部 X 光檢查有肺結核病灶。
2. 罹患活動期動脈疾病未治療穩定者，如不穩定心絞痛、急性心肌梗塞、短暫性腦缺血 (TIA)、急性腦中風 (CVA)、因心肌或週邊血管疾病 (PVD) 而執行血管復通術、或於回診前 24 週內執行血管成型術。
3. 黃疸肝硬化或嚴重肝功能異常(ALT 超過正常範圍上限 3 倍)病史
4. 第四或第五期慢性腎臟疾病史。
5. 懷孕或哺乳中婦女。
6. 近五年內有酗酒、藥物濫用者。
7. 前十二週內曾使用任何研究用藥。
8. 經研究醫師判斷受試者患有嚴重、不穩定的醫療或精神狀況疾病，可能危及自身安全或影響完成本試驗者。

收案時間：

本研究原預計自 100 年 2 月開始進行，但由於人體試驗委員會 (IRB) 審核及合約簽訂時間延後，實際開始進行研究時間為 100 年 4 月 18 日至 100 年 12 月 14 日，實際收案時間約為八個月。

342 名受試者全部接受丙型干擾素釋放試驗 (interferon gamma release assays, IGRA)，以 QuantiFERON-TB Gold In-tube method (QFT-IT) 檢測，檢測為陽性者必須再接受痰液抗酸性染色和分枝桿菌培養以確定是否已感染肺結核。接著以隨機、雙盲方式分派為研究組與對照組，分別給予預防性 INH 300mg QD 或安慰劑治療六個月，兩組同時接受 pyridoxine supplementation 50 mg QD 治療以預防神經病變。研究過程中，研究助理與病患進行電訪或家訪，檢查病患小便顏色，並須確定病患有規則服藥。在本一年期研究結束後，研究小組將持續追蹤病患，在停藥一年之後依胸部 X 光檢查及疾病管制局傳染病監測網檢索已通報結核病確診個案，比較兩組病患感染肺結核比率。

檢驗方法為利用丙型干擾素釋放試驗 (IGRA)，以 QuantiFERON-TB Gold

In-Tube (Celestis, Australia) 方法分析 [14]。其步驟如下：

- A. Collect 1mL of blood into Nil, Antigen and Mitogen tubes.
- B. Shake the three tubes
- C. Incubate tubes at 37°C, 16~24 hours.
- D. Centrifuge tubes for 15 minutes.
- E. Harvested plasma is stable refrigerated for 4 weeks.
- F. Add conjugate, plasma samples, and standards to ELISA.
- G. Incubate for 120 minutes at room temperature.
- H. Wash and add substrate.
- I. Read absorbance after 30 minutes.
- J. Software calculates results.

本研究使用 SPSS® 18.0 for windows 軟體進行統計分析，分析 QFT-IT 陽性與陰性兩組間的差異，連續變項使用 t 檢定，類別變項使用卡方檢定，無母數分析則使用費雪精確檢定分析，決定統計檢定的顯著水準為 two-tailed $P < 0.05$ 。

結果

研究目標 KPI (key performance index) 達成情形

1. 收案率：收案人數 367 人，實際已進行丙型干擾素釋放試驗— QFT-IT 檢測者為 342 人。預計收案人數為 120 人，收案比率為 305.8%，實際進行試驗比率 285%，已達成研究目標。
2. 電訪或家訪率(80%以上)：已完成電訪或家訪者共 97 人，預計人數為 120 人，電訪及家訪率為 80.8%，已達成預定研究目標。

已進行雙盲藥物治療者共 42 人，其中 1 位因藥物過敏退出治療，另 2 位不願意繼續接受治療，目前實際接受治療人數為 39 人。其餘 QFT-IT 陽性者將陸續接受雙盲藥物治療六個月，並持續追蹤其後肺結核感染之情形。

接受 QFT-IT 檢測的 342 名個案中，男性共 186 人，佔 54.4%；女性共 156 人，佔 45.6%。檢驗結果 QFT-IT 陽性者共 101 人，佔 29.5%；陰性者共 241 人，佔 70.5%。已進行雙盲藥物治療者共 42 位，其中 1 位因過敏退出治療，另 2 位不願意繼續接受治療，目前實際接受治療人數為 39 位。其餘 QFT-IT 陽性者將陸續接受雙盲藥物治療六個月，並持續追蹤其後肺結核感染之情形。

比較分析 QFT-IT 陽性與陰性者間的差異，在性別、體重、教育程度、罹患糖尿病時間長短、是否抽菸、是否曾罹患癌症、家族中是否有人曾罹患結核病、是否曾有肺結核病患接觸史及其每日睡眠時間長短等項目上二者間並無差異 (表一)。最近三年內病人最高的糖化血色素值 (8.748 vs 8.610, $P = 0.596$) 及最近三年內平均糖化血色素值 (8.125 vs 7.987, $P = 0.498$) 在 QFT-IT 陽性與陰性兩組間也沒有差異 (表一)。但在病人的年齡及糖尿病發病年齡的分析則可見 QFT-IT 陽性者與陰性者間有顯著差異 (表二、表三)。QFT-IT 陽性者平均年齡 56.27 歲，陰性者平均年齡 51.61 歲，統計上有顯著差異， P 值小於 0.001。若以 55 歲為分界，年齡在 55 歲以上 QFT-IT 陽性者共 68 人，佔 40.2%，陰性者共 101 人，佔 59.8%；年齡在 55 歲以下 QFT-IT 陽性者共 33 人，佔 19.1%，陰性者共 140 人，佔 81.9%，統計上顯著差異， P 值小於 0.001。QFT-IT 陽性者糖尿病發病年齡平均 49.34 歲，陰性者糖尿病發病年齡平均 45.58 歲，統計上顯著差異， P 值小於 0.001。若以 50 歲為分界，糖尿病發病年齡在 50 歲以上 QFT-IT 陽性者共 54 人，佔 38.6%，陰性者共 86 人，佔 61.4%；糖尿病發病年齡在 50 歲以下 QFT-IT 陽性者共 47 人，佔 23.3%，陰性者者共 155 人，佔 76.7%，統計上有顯著差異， P 值為 0.002。

表一、QFT-IT 陽性與陰性二組間各變項之差異

變項		QuantiFERON		P 值
		陽性	陰性	
性別	男性	59 (31.7%)	127 (68.3%)	0.333*
	女性	42 (26.9%)	114 (73.1%)	
年齡 (歲)		56.27±7.23	51.61±8.51	<0.001 [§]
身高 (公分)		162.0±8.96	162.62±8.44	0.553 [§]
體重 (公斤)		69.93±13.19	70.60±14.61	0.572 [§]
糖尿病發病年齡 (歲)		49.34±8.85	45.58±8.98	<0.001 [§]
最近三年內最高 A1c (%)		8.748±2.166	8.610±2.007	0.596 [§]
最近三年內平均 A1c (%)		8.125±1.741	7.987±1.542	0.498 [§]
糖尿病罹病時間 (年)		6.85±7.19	6.01±6.34	0.287 [§]
抽菸	是	30 (34.1%)	58 (65.9%)	0.464*
	否	57 (27.0%)	154 (73.0%)	
	已戒菸	8 (30.8%)	18 (69.2%)	
癌症	是	1 (5.0%)	19 (95.0%)	0.011 [¶]
	否	100 (31.1%)	222 (68.9%)	
結核病家族史	是	12 (26.1%)	34 (73.9%)	0.728 [¶]
	否	89 (30.1%)	207 (69.9%)	
肺結核病人接觸史	是	10 (25.0%)	30 (75.0%)	0.579 [¶]
	否	75 (30.1%)	174 (69.9%)	
	不詳	16 (30.2%)	37 (69.8%)	
教育程度				0.148*
每日睡眠時間 (小時)		6.74±1.71	6.56±1.82	0.388 [§]

*卡方檢定 § t 檢定 ¶ Fisher's Exact Test

表二、QFT-IT 陽性與陰性二組間年齡之差異

年齡	QuantiFERON		P 值*
	陽性	陰性	
≥55 歲	68 (40.2%)	101 (59.8%)	<0.001
<55 歲	33 (19.1%)	140 (80.9%)	

* 卡方檢定

表三、QFT-IT 陽性與陰性二組間糖尿病發病年齡之差異

糖尿病發病年齡	QuantiFERON		P 值*
	陽性	陰性	
≥50 歲	54 (38.6%)	86 (61.4%)	0.002
<50 歲	47 (23.3%)	155 (76.7%)	

* 卡方檢定

討論

根據高雄榮總研究團隊針對洗腎患者所做的研究報告，洗腎患者的 QFT-IT 陽性比率為 37.5%，而一般健康控制組之陽性率為 12.5% [22]。本研究中第二型糖尿病人 QFT-IT 之陽性比率為 29.5%，此比率遠高於一般健康族群，略低於洗腎患者。過去認為糖尿病患者為潛伏結核感染之中度危險族群[16-20]，本研究之結果顯示第二型糖尿病人發生潛伏結核感染之危險接近高危險群。糖尿病人有較高的潛伏結核感染，可能與糖尿病者免疫力下降有關，也可能由於其特殊的基因型所致，進一步的基因研究與危險因子探討有其必要性。

根據過去之研究報告，血糖越高其活動性肺結核的發生率越高，且肺結核的嚴重度也越高 [21]，因此推論血糖越高者其潛伏結核的發生率可能也越高。本研究發現糖尿病人血糖控制之好壞與其潛伏結核感染之發生無關，此一結果推翻上述推論。當感染發生時，糖尿病人的血糖極容易上升，因此當活動性肺結核發生時，病人的血糖也可能特別高，因此過去的橫斷性研究結論皆為肺結核與血糖高低有關，但此結論無法推論其因果關係。若本研究繼續追蹤糖尿病潛伏結核的患者，並記錄其血糖控制與日後肺結核發病情形，將可得到更寶貴的相關資料可以釐清血糖控制與結核病間之因果關係。

在過去文獻中，性別與抽菸與否與肺結核的發生有顯著的關係，但在本研究中並未見到第二型糖尿病人中潛伏結核感染者在性別與抽菸與否上的差異。或許潛伏者與肺結核發病者間之特性仍有不同，潛伏者與其免疫力有關，與是否抽菸或性別之關係並不大，而肺結核感染者方與其性別或是否抽菸有關。但本研究中並未見到是否曾罹患癌症或是否曾接觸肺結核病患者之潛伏感染有差異，可見第二型糖尿病患者另有更強的因素導致其潛伏結核感染。當然，潛伏結核感染並不代表日後必定感染肺結核，這部分有待本研究後續的追蹤來釐清。

在本研究中可見與第二型糖尿病是否潛伏結核感染最強的關聯為年齡，QFT-IT 陽性組之年齡顯著高於陰性組。若以不同年齡層來分組，55 歲是顯著的切點，高於 55 歲者陽性的比例較高。肺結核的發生率也是以高年齡層為較高，糖尿病人年齡越大其發生併發症的危險性也越高。因此高齡的第二型糖尿病患是所有糖尿病人中結核病的高危險群，以結核病防治的角度來看，針對此一族群做結核病篩檢實有必要。另外在 QFT-IT 陽性組中，第二型糖尿病發病年齡也較陰性組為高。推究其原因，較年輕發生糖尿病者，其發病時體力尚可，且免疫力不差，較不容易潛伏感染結核。反之，年紀較大才發生糖尿病者，其體力已漸漸衰退，且免疫力也日漸變差，因此較容易感染潛伏結核。

若血糖仍是第二型糖尿病患潛伏結核感染的重要因子，卻在本研究中並未見到病人的糖化血色素與 QFT-IT 間之相關性，可能由於血糖的變動性頗大，結核分枝桿菌的潛伏期又非常長，即使是最近三年內糖化血色素的平均值或三年內最高的數值也不足以代表病人的血糖對可能潛伏結核感染的影響。或許糖尿病發病時的血糖或糖化血色素，更能做為是否潛伏結核感染的重要指標。但由於本研究屬橫斷性研究，病人糖尿病發病時的血糖或糖化血色素多無法取得，因此無法驗證此一假說。須另設計一前瞻性研究，針對新診斷之糖尿病患，記錄其發病時的血糖及糖化血色素，並進行後續之追蹤，可得其潛伏結核感染與肺結核感染的發生率與血糖之間的關係。

結論與建議

本研究初步結論為第二型糖尿病人可能為潛伏結核感染之高危險群，本研究並未見到潛伏結核感染與血糖之高低或糖尿病發病時間長短間之相關性。

另外 55 歲以上的糖尿病人或糖尿病發病年齡在 50 歲以上者，為潛伏結核感染的高危險群。可針對這一族群之病患，利用 interferon gamma release assays (IGRA) 以 QuantiFERON-TB Gold In-tube (QFT-IT) method 檢測找出其中潛伏結核感染之個案，持續追蹤或施行預防性藥物治療，以達到預防糖尿病高危險群發生肺結核感染之目的。

下一階段的研究可分為兩方面進行：其一為繼續研究糖尿病與高結核感染發生之可能機轉，可能須發展基因研究與設計前瞻性研究找出其間之因果關係。其二為針對潛伏結核感染之糖尿病人進行預防性治療研究，確定預防性治療對於糖尿病人潛伏結核感染者是否有其效力，以做為日後政策訂定之參考。

計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

本研究初步結論為第二型糖尿病人可能為潛伏結核感染之高危險群，本研究並未見到潛伏結核感染與血糖之高低或糖尿病發病時間長短間之相關性。

另外 55 歲以上的糖尿病人或糖尿病發病年齡在 50 歲以上者，為潛伏結核感染的高危險群。可針對這一族群之病患，利用 interferon gamma release assays (IGRA) 以 QuantiFERON-TB Gold In-tube (QFT-IT) method 檢測找出其中潛伏結核感染之個案，持續追蹤或施行預防性藥物治療，以達到預防糖尿病高危險群發生肺結核感染之目的。

下一階段的研究可分為兩方面進行：其一為繼續研究糖尿病與高結核感染發生之可能機轉，可能須發展基因研究與設計前瞻性研究找出其間之因果關係。其二為針對潛伏結核感染之糖尿病人進行預防性治療研究，確定預防性治療對於糖尿病人潛伏結核感染者是否有其效力，以做為日後政策訂定之參考。

參考文獻

1. 行政院衛生署疾病管制局，結核病防治工作手冊。2002。
2. 行政院衛生署疾病管制局：90年結核病防治年報。2003。
3. 周崧菁，結核病之流行病學研究：以台灣省慢性病防治局為例。台灣大學公共衛生學系碩士論文，1998。
4. <http://www.zskxg.com/shengming/jiangzhuo-8.htm>
5. 張智仁，台灣糖尿病的盛行率及其相關因素之省思。糖尿病家族，2002；3：4-7。
6. 郭清輝，糖尿病慢性併發症。台北市醫師公會會刊，2002；46：17-20。
7. Oluboyo PO, Erasmus RT: The significance of glucose intolerance in pulmonary tuberculosis. *Tubercle* 1990;71:135-138.
8. Bloom JD: Glucose intolerance in pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1969;100:38-41.
9. Root HF, The association of diabetes and tuberculosis. *New Engl J Med*. 1934;210:78-127.
10. 龔佩珍，糖尿病對結核病之相對危險性及合併糖尿病結核患者之需求調查-以中部地區為例。行政院衛生署疾病管制局九十三年度科技研究發展計畫，2004。
11. <http://www.wy.com.cn/jbzn/tangniaobing/tnb5.htm>
12. <http://www.atcinfohk.com/>
13. Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, etc. Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection – United States, 2010. *MMWR* 2010; 59: RR-5.
14. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170(1):65-9.
15. Sester M, Sester U, Clauer P, Heine G, Mack U, Moll T, et al. Tuberculin skin testing underestimates a high prevalence of latent tuberculosis infection in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2004; 65(5):1826-34.
16. Lobue P, Menzies D. Treatment of latent tuberculosis infection: An update. *Respirology* 2010;15:603-622.
17. Kim SJ, Hong YP, Lew WJ, et al. Incidence of pulmonary tuberculosis among diabetics. *Tuber Lung Dis* 1995;76:529-33.
18. Silwer H, Oscarsson PN. Incidence and coincidence of diabetes mellitus and pulmonary tuberculosis in a Swedish county. *Acta Med Scand* 1958;161: 1-48.
19. Pablos-Mendez A, Blustein J, Knirsch CA. The role of diabetes mellitus in the higher prevalence of tuberculosis among Hispanics. *Am J Public Health* 1997;87:574-9.
20. Boucot KR. Diabetes mellitus and pulmonary tuberculosis. *J Chronic Dis* 1957;6:256-79.
21. Park SW, Shin JW, Kim JY, etc. The effect of diabetic control status on the clinical features of pulmonary tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; online.
22. Lee SSSJ, Chou KJ, Su YS, et al. High prevalence of latent tuberculosis infection in patients in End-Stage Renal Disease on hemodialysis: Comparison of QuantiFERON-TB GOLD, ELISPOT, and Tuberculin Skin Test infection. 2009; 37: 96-102.

附錄 1

親愛的_____您好：
感謝您參與本結核病防治研究計畫。

檢驗項目

結果

潛伏肺結核檢驗

陽性

陰性：表示無檢測到潛伏肺結核的反應。

陽性：表示有檢測到潛伏肺結核的反應。

此期間內您抽血結果為陽性。表示您有感染之虞。但胸部 X-ray 及痰液染色為正常，接下來將為您安排六個月清除治療試驗及追蹤。

什麼是肺結核？

肺結核是一種危害肺部的感染性疾病，經過正規治療肺結核是可以治癒的。

肺結核如何傳播？

結核菌通過空氣傳播。如果你吸入這種細菌，就可能患肺結核。

潛伏性結核病：

你的身體通常能保護你不受結核菌傷害。你的身體會在結核菌周圍築起一道牆，使它們不能侵害你的肺，這些細菌因此處於休眠狀態。休眠的結核菌叫做『潛伏性結核病』。如果你有潛伏性結核病，你不會感到有病，你也不會把結核病傳給別人。

然而潛伏性結核菌可能會伺機發病，一般人受到感染後一生中約有 10%機會發病，距離受感染的時間愈近，發病機會愈大，離感染時間愈遠則發病機會愈小。

結核病防治研究計畫關心您

主持人 謝安慈醫師 電話 0983618405 、e-mail：antsz@tmu.edu.tw

緊急聯絡人 蔡昆原醫師 電話 0937977950 、e-mail：coldiceic@gmail.com

研究助理 陳勇宗 電話 0987270141

附錄 2

您好：我們希望透過您的幫忙完成對於結核病之問卷調查，感謝您的配合！

1、姓名：

2、性別：男 女

3、基本資料：身高 _____ cm，體重 _____ kg，血壓 _____ / _____

4、年齡：30 歲~40 歲 40 歲~50 歲 50 歲~60 歲 60 歲以上

5、教育程度：國小 國中 高中（職） 大專 碩士以上

6、嗜好品：不喝酒，不抽煙

- 抽煙：煙齡 _____ 年，每日平均抽 _____ 支，已經戒菸 _____ 年 _____ 月
- 飲酒：每週 _____ 次，每次飲酒量 _____ 瓶，飲酒種類：
- 7、併發症：消化系統 內分泌系統 肌肉、骨骼系統
泌尿生殖系統 呼吸系統 其他 無
心臟血管系統（高血壓 或 缺氧性心臟病） _____
- 若有以上併發症，請詳述：
- 8、請問有否癌症病史；有 沒有
- 若有癌症病史，請詳述：
- 9、家族病史：本人之親屬中有人罹患此病，他們與我關係是 _____，
 患病時年齡為： _____ 歲
無
- 10、請問工作環境或是生活環境有接觸結核病患者：沒有
有，_____ 狀況下
不清楚
- 11、請問你會經常覺得生活壓力很大嗎？
從未 很少(少於 1 天/週) 偶爾(1-2 天/週) 經常(3-5 天/週)
總是(6-7 天/週)
- 12、請問你每天平均睡眠時間有多少？ _____ 小時
- 13、請問您平常有失眠的習慣嗎？
從未 很少(少於 1 天/週) 偶爾(1-2 天/週) 經常(3-5 天/週)
總是(6-7 天/週)
- 14、請問你平常是否有運動的習慣？
沒有
有，平均一週運動 _____ 次，每次 _____ 分鐘 _____ 分
- 15、一般來說，您認為自己的健康狀況是？ 好 普通 不好
- 16、您認為自己的免疫力如何？ 好 普通 不好
- 17、您認為自己的營養狀況如何？ 好 普通 不好
- 18、最近時常咳嗽超過一個月？ 有 沒有
- 19、常常咳嗽有痰？ 有 沒有
- 20、常常覺得噁心想吐？ 有 沒有
- 21、常常覺得胸悶？ 有 沒有
- 22、最近是否有出國旅遊 有， _____ 國家 沒有
- 23、糖尿病病史 _____ 年

分項計畫 6： 北台灣呼吸照護病房潛伏結核性感染治療評估

摘要

研究目的：呼吸照護病房病患有較高的肺結核感染風險，相對於一般族群，其感染風險高達 10.8 倍。潛伏結核感染(LTBI)之診斷主要依據結核菌素皮膚測驗(TST)，然而由於台灣民眾普遍接種卡介苗，故使得 TST 並不合適作為篩檢工具。QuantiFERON 於偵測 LTBI 有良好的敏感度及特異性，應合適用以作為 LTBI 的篩檢工具。

研究方法：本研究針對北台灣地區 RCW 病患及工作人員施以 QuantiFERON 篩檢，並佐以痰液檢測。以瞭解這些高風險族群 LTBI 的盛行率並與先前國內外研究互相比較。

主要發現：工作人員痰液抗酸性染色法(AFS)陽性率均為 2.1%，非結核分枝桿菌感染 (NTM)比率為 0%，但其中有一位確認為 TB infection (2.1%)。病患 AFS 陽性率平均為 21.7%，NTM 比率為 23.2%，且其中有一位確認為 TB infection (1.4%)。在 QuantiFERON 工作人員陽性率為 18.2%、病患為 25.0%；其中 5.7%病患檢驗結果為 Indeterminate。

結論及建議：NTM 在 RCW 的高盛行率造成使用 TST 可能會有較高的 cross reaction。而且這些呼吸道的 NTM 往往是 AFS 陽性，在培養報告確定以前，會與 TB 無法區分。且由於 QuantiFERON 較 TST 而言，其侵入性及相關不便均較低，建議對於 RCW 相關人員定期篩檢 LTBI，並且在台灣地區使用 QuantiFERON 作為 LTBI 篩檢工具會比 TST 合適

關鍵字：呼吸照護病房、潛伏結核感染、QuantiFERON

前言

結核病(Tuberculosis, TB)是由結核桿菌感染所造成的，若無適當治療，則患者在3年死亡率達50%以上。雖然在所有受感染人中，95%會因自身免疫力而未發病，但會有終身再活化(Reactivation)的潛在危險，即所謂潛伏結核感染(latent tuberculosis infection, LTBI)危險群，待其免疫系統變差或其他危險因子誘發，將會引發TB。

根據估計，美國約有1千至1千五百萬的LTBI人口，其中5~10%將發展為結核病，因此如何早期鑑別及診斷LTBI，並及早介入治療，是進一步根除結核病的重要課題。LTBI高危險族群包括移民、在高密度居住所的住民及員工與個體免疫力較差者(如AIDS)(1,2)。

呼吸照護病房(Respiratory Care Ward, RCW)內之住民，由於空間密閉、需長期仰賴呼吸器、無法自行活動、身體免疫力較差等特性，故易成為TB群聚感染的好發環境。相關工作人員長期處於此高TB感染風險之處所，其罹病風險亦值得審慎評估。對此高危險特定區域內，針對患者及工作人員施行較嚴格之LTBI控制及治療是重要的。

潛伏結核感染(latent tuberculosis infection, LTBI)之診斷主要依據結核菌素皮膚測驗(Tuberculin Skin Test, TST)然而由於台灣民眾普遍接種卡介苗，故使得TST產生為陽性的機會大增，並不合適作為篩檢工具(3,4)。QuantiFERON Gold乃是偵測宿主T細胞在接觸肺結核抗原(是BCG所沒有的)後所分泌的interferon-gamma(3,5)。故QuantiFERON Gold應該比TST更適合作為LTBI的偵測工具(6)。過往研究亦發現QuantiFERON Gold對於LTBI偵測之敏感度及精確度均佳，目前國內亦已引入，可以作為初步篩檢工具(7;8)。

RCW住民有較高的肺結核感染風險，相對於一般族群，其感染風險高達10.8倍，自91年3月至92年8月間，台灣地區經通報疾病管制局並處理結案之疑似肺結核院內聚集感染事件計15件，個案總數達129名，這些病患絕大多數是使用呼吸器的長期臥床病人，而非結核分枝桿菌(NTM)在RCW的高盛行率(21.45%)也對肺結核的診斷產生干擾(9)。使用QuantiFERON Gold來找出RCW的LTBI個案並給予預防性治療應可降低RCW的肺結核盛行率進而減少結核院內聚集感染。

同時在此區域工作之同仁亦暴露於高TB罹患風險，雖然這些工作同仁每年定期作胸部X光檢查，然而在每次檢查期間若發生感染，則其同儕或接觸者將會暴露在受感染之風險，如果將胸部X光檢查之頻率提高，這些人員又將暴露於過多累積輻射劑量，因此需要針對此區域工作人員制定更適當且非侵入性的篩檢流程。

因此本計畫之目的在於針對RCW之住民及工作人員，以QuantiFERON Gold施行LTBI監測，藉以擬定我國對於LTBI高危險族群監測模式。

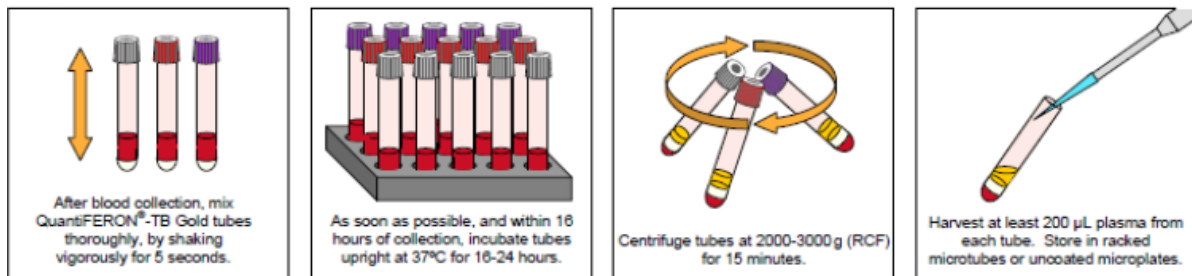
材料與方法

目前 LTBI 之診斷主要依據結核菌素皮膚測驗 (Tuberculin Skin Test, TST)，然而由於台灣民眾普遍接種卡介苗，故使得 TST 並不合適作為篩檢工具。QuantiFERON Gold 在偵測 LTBI 的敏感度及精確度均佳，目前國內亦已引入，可以作為初步篩選工具。

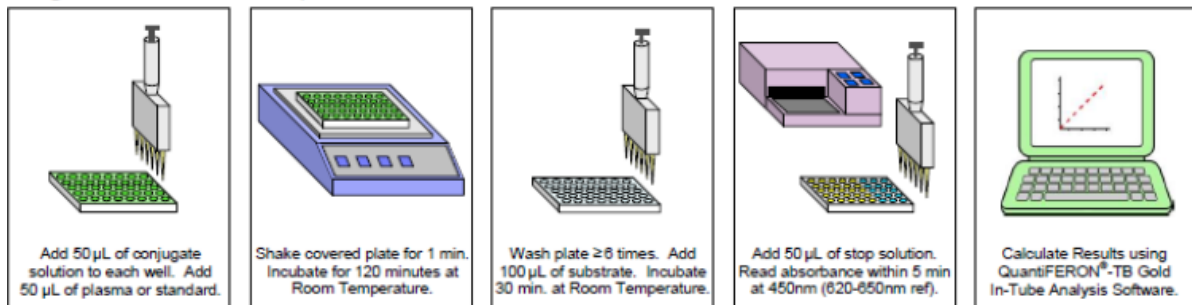
本研究之研究處所為北台灣地區，不同縣市有 20 床以上 RCW 之醫療院所。自 2011 年 5 月起，收集所有已住及新住之患者及參與照護 RCW 患者之醫護工作人員。所有參與之個案將以問卷收集其個人基本資料及疾病史，主要為與身體免疫能力如心臟疾病、高血壓、糖尿病、氣喘、慢性阻塞性肺炎等，另亦評估患者是否長期服用類固醇類藥物。詳細問卷如附錄 1。

除問卷調查外，所有個案以 QuantiFERON Gold 進行檢測。採集流程為採集個案靜脈血液 3-5ml，並置入含有抗凝血劑之採集管，之後再分裝入 3 管含有檢測劑之之試管內 (Nil, TB Antigen, Mitogen)。採集管採集完畢後，置於室溫(17~27°C)，並於 16 小時內送實驗室以 ELISA Kit 進行分析，應用 ELISA 測量受到結核菌特異抗原(TB Specific Antigen) 刺激後之 T-cell 所分泌的 Interferon-Gamma 的量進行偵測。其檢驗示意圖如下：

Stage One – Blood Incubation and Harvesting



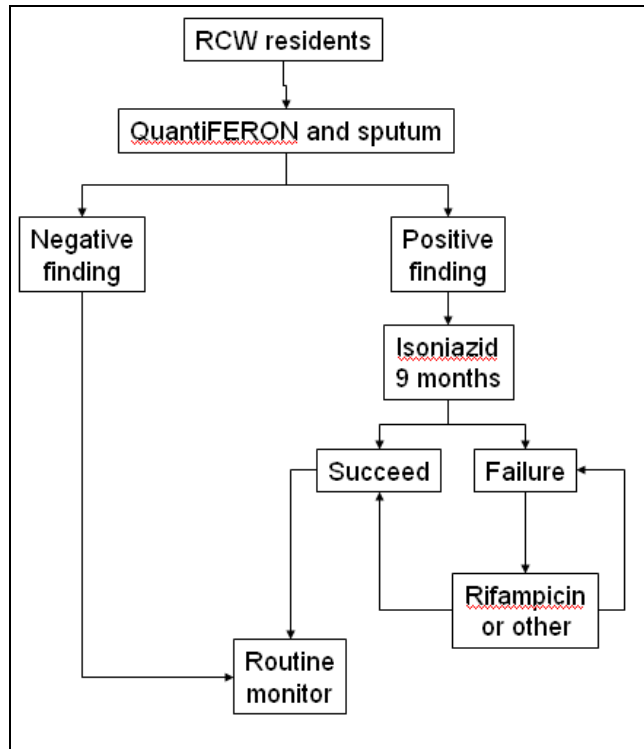
Stage Two – Human IFN- γ ELISA



由於許多參與之工作人員均會定期接受胸部 X 光檢查，以確認是否有異常發現，同時 RCW 病患亦有類似情形，為必免重複 X 光暴露，本研究所有參與個案將調閱其最近一次照胸部 X 光是否有異常發現，並收集其痰液或呼吸道的檢體予以分析。痰液部分利用抗酸性染色(acid fast stain) 初步鑑定是否有分枝桿菌(Mycobacteria)的存在，並進一步利用抗酸性菌培養(Acid-Fast culture)確認是否為結核分枝桿菌。所有個案均收集三套痰液樣本，原則分三天採集，採集完畢之檢體將先保存於 4 度 C 冰箱，再送合格實驗室進行後續分析。

針對篩檢陽性者，進行菌株檢驗及相關檢查；另依據國內 CDC 對於 LTBI 之治療準則，將請胸腔科醫師評估，視個案狀況原則給予 Isoniazid 9 個月的治療，並監測其治療

副作用(如肝功能)，流程圖如下：



所有資料將以 Microsoft Access 2003 年版進行登錄，並以 SPSS 套裝軟體(SPSS 14.0, Chicago, IL, USA)進行各項統計分析。其中連續變項，以平均值±標準差表示，並以 t 檢定、ANOVA 或相關合適統計方法進行檢定；類別變項則以百分比呈現，將利用卡方檢定、一致性檢定及邏輯式迴歸分析等進行分析。本計畫經壙新醫院人體試驗委員會審核同意後進行(LS-IRB-11-16)，所有個案均簽署受試者同意書(informed consent)後再施行。

結果

由於部分醫院採集檢體速度較慢，致使收案進度收到影響；部分 QuantiFERON Gold 檢體需要重測，同時分枝桿菌培養(Acid Fast Culture)之培養時間需要 2 個月，致使部分個案尚未取得其檢測結果。後續將持續取得檢驗結果並納入分析。目前已收取個案之狀態如下：

地區	醫院類別	預定 參與數 ¹	已收案數 ²	問卷	取得結果人數	
					QuantiFERON	Acid Fast Stain
基隆	區域醫院	35	35	35	36	6
台北	地區醫院	35	12	0	0	0
台北	地區醫院	35	0	0	0	0
桃園	區域醫院	35	36	36	30	36
竹東	地區醫院	35	35	32	35	32
苗栗	區域醫院	35	43	43	42	43
小計		210	162	146	143	117

註 1：已同意本研究進行收案，展開同意書簽訂

註 2：已採集血液、痰液或同意書已簽訂

表一呈現針對已收案人數 162 人，扣除 12 位採檢不良，共 150 位進行初步資料分析，其個案平均年齡為 61.9±24.4 歲、平均 BMI 為 23.3±4.5；工作人員為 61 位(40.7%)，病患為 89 位(59.3%)。年齡層 29 歲以下佔 11.3%、30-44 歲 26.7%、45-64 歲 12.7%、65 歲以上 49.3%。以女性居多(69.3%)，抽菸比例為 10.7%，且均有超過 10 年以上的抽菸史；過去曾被診斷有 TB 之比例為 6.0%。

表二顯示在工作人員及病患間，各項與 TB 有關之過往疾病史，工作人員之 Asthma 盛行率為 1.6%、Scoliosis 為 3.3%、Hypertension 為 1.6%，同時有 2 人目前長期服用類固醇藥物(3.3%)。在病患部分，有 14.6% 個案有心臟疾病、Asthma 為 9.0%、COPD 為 14.6%、陳舊型中風有 33.7%、糖尿病為 19.1%、高血壓為 34.8%、目前長期服用類固醇藥物(11.2%)。

根據目前已收到之痰液檢驗結果共 117 人(工作人員：48 位、住民：69 位)，可發現工作人員三套 Acid fast stain 陽性率為 2.1%，Nontuberculous Mycobacterium 比率為 0%，但其中有一位確認為 TB infection (2.1%)。病患三套 Acid fast stain 陽性率為 23.2%、21.7% 及 20.3%，Nontuberculous Mycobacterium 三套比率為 29.1%、20.3%、20.3%，且其中有一位確認為 TB infection (1.4%)。在 QuantiFERON 檢驗部分，共有 143 位個案已收到完整報告，其中工作人員陽性率為 18.2%、病患為 25.0%；其中 5.7% 病患檢驗結果為 Indeterminate (意即免疫力較差)，故無法進行判讀。(表三)

以所收集到之基礎資料，合併分析與工作人員 QuantiFERON 檢驗結果相關因子，雖然因為樣本數不多，但可發現檢驗結果陽性者較檢驗結果陰性者，其平均年齡較長(36.6 歲 vs 34.3 歲，p=0.508)，工作年資亦較高(8.5 年 vs 6.5 年，p=0.209)，其他危險因子因為人數不多，故無統計顯著差異。(表四)

在病患 QuantiFERON 檢驗結果相關因子分析部分，可發現陽性者較陰性者有較多之男性(73.3% vs 37.5%，p=0.02)，同時抽菸比例較高(33.3% vs 15.6%)，抽菸超過 10 年

比例亦較高(33.3% vs 15.6%)；在陽性者中，曾被診斷為 TB 者佔 20%，較陰性者 9.4% 為高，但無統計上顯著差異($p=0.367$)；其他與身體免疫或 TB 相關疾病或因子，可發現陽性者較陰性者比例較高有陳舊性腦中風(53.3% vs 43.8%)、Hypoxic encephalopathy (20% vs 9.4%)、diabetes (40% vs 25%)、hypertension (60% vs 43.8%)，但均無統計上顯著差異。(表五)若比較各地區 QuantiFERON 篩檢陽性率的差異，可發現以基隆、桃園兩地陽性率較高，特別在住民部分，基隆為 34.6%、桃園為 35.3%，而新竹及苗栗各為 17.4% 及 13.6%。(表六)

討論

醫療照護相關工作人員(Health-care workers, HCWs)由於暴露風險較高，有較高的潛伏結核感染(latent tuberculosis infection, LTBI)風險(10)。本研究中工作人員 QuantiFERON 檢驗陽性率為 18.2%，若對照桃園某區域醫院 2001 年至 2005 年以 TST 篩檢 LTBI,陽性率為 28.1%(11)，此部分差異是否由於卡介苗接種導致 TST 陽性率較高，尚有待本研究之 TST 結果來佐證。病患 QuantiFERON 檢驗陽性率為 25%，而有 5.7%病患檢驗結果為 Indeterminate，對照將 QuantiFERON 使用於血液透析病患的文獻，其陽性率介於 22-46%(12,13)，其中韓國較美國陽性率高，應該是受到不同地區結核盛行率的影響。

本研究發現新竹以南之病患，其 QuantiFERON 陽性率較低，此部分可能與地區盛行率與各醫院對於病人入住前之篩選標準，與後續監測方式不同，故其 QuantiFERON 結果亦有所差異。

使用 TST 來偵測 LTBI 會遇到幾個問題：第一注射的疼痛；第二是注射處可能產生併發症；第三是要在皮下注射後 48-72 小時判讀結果，意即需要再訪視；第四是 cut off 值的訂定；第五是 false-negative(在免疫力較差的病人)；第六是 false-positive(因為卡介苗的接種,或是 NTM cross reaction)；以上問題使用 QuantiFERON 都能解決，首先只需要抽血，且不需要再訪視，QuantiFERON 有明確的 cut off 值，false-negative 較少(免疫力較差的病人會得到 intermediate 的結果)，由於 QuantiFERON 是偵測 T-cell 對 ESAT-6、CFP-10 這兩個特定抗原，不易受到卡介苗的影響或是產生 NTM cross reaction。

本研究也再度證實了一個不可忽略的現象，那就是 NTM 在 RCW 的高盛行率 (23.2%)。這與沈光漢所調查中部 RCW 的 NTM 盛行率(21.45%)略相等(9)。所以在 RCW 病患身上使用 TST 可能會有較高的 cross reaction。而且這些呼吸道的 NTM 往往是 AFS 陽性，在培養報告確定以前，會與 TB 無法區分，往往需進行 TB PCR (polymerase chain reaction)來幫助診斷(14)。

由於本研究還有一些住民的 QuantiFERON 及 TST 結果尚未獲得，並且有許多工作人員拒絕執行 TST，在資料收集完整後將再進行分析。作為 LTBI 篩檢工具，QuantiFERON 的接受度確實比 TST 好。

結論與建議

美國 FDA 已核准 QuantiFERON 用來診斷結核感染，但須配合放射檢查、感染風險評估及其他醫療診斷工具。並且在曾接種卡介苗的個案，建議使用 QuantiFERON 來取代 TST 以降低 false positive rate(15)。所以我們建議對於 RCW 住民以及工作人員應該定期篩檢 LTBI，並且在台灣地區使用 QuantiFERON 會比 TST 合適。

計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

由於 LTBI 對於 RCW 住民以及工作人員之健康均有威脅，建議針對此類高 TB 感染風險之處所，能定期篩檢 LTBI。同時，運用侵入性低，且不易受到干擾之篩檢工具(如 QuantiFERON)是較合適的作法。

參考文獻

1. American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:S221–47.
2. Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC. Clinical practice. Latent tuberculosis infection. *N Engl J Med* 2002;347:1863.
3. Lee SS - High prevalence of latent tuberculosis infection in patients in end-stage renal disease on hemodialysis: Comparison of QuantiFERON-TB GOLD, ELISPOT, and tuberculin skin test. - *Infection* - 01-APR-2009; 37(2): 96-102
4. Ewer. K Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. - *Lancet* - 5-APR-2003; 361(9364): 1168-73
5. Gerald H. Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB Gold Test for Detecting *Mycobacterium tuberculosis* Infection, United States MMWR December 16, 2005 / 54(RR15);49-55
6. Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB: a metaanalysis. *Chest* 2010;137:952-68.
7. Manuel O, Kumar D. QuantiFERON-TB Gold assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection. *Expert Rev Mol Diagn* 2008;8:247-56.
8. Hauck FR, Neese BH, Panchal AS, Amin WE. Identification and Management of Latent Tuberculosis Infection. *Am Fam Physician* 2009;79:879-86.
9. 沈光漢,非結核分枝桿菌 (non-tuberculosis mycobacteria;NTM) 之調查研究,行政院衛生署 95 年度委託研究計畫
10. Faibis Prevalence of latent tuberculosis infection among health care workers from the emergency department of Meaux hospital using an interferon gamma release assay Presse Med. 2011 May 4
11. 黃婉瑩, 桃園某區域醫院醫療人員結核菌素測驗五年追蹤調查,感染控制雜誌,第十七卷,第二期
12. Liviu Segall, Diagnosis of Tuberculosis in Dialysis Patients: Current Strategy *Clin J Am Soc Nephrol* 5: 1114–1122, 2010
13. W. K. Chung, Validity of interferon-c-release assays for the diagnosis of latent tuberculosis in haemodialysis patients *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 960–965
14. 王振源,結核病的診斷-分子診斷的實際運用,結核醫訊,2011 第四期:26-27
15. US CDC, MMWR, Updated Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays to Detect *Mycobacterium tuberculosis* Infection — United States, 2010, June 25, 2010 / Vol. 59 / No. RR-5.

表一、個案基本狀態 (n=150)

變數	mean±SD
平均年齡	61.9±24.4
身體質量指數(BMI)	23.3±4.5
工作年資(僅工作人員)	6.8±3.5

變數	人數 (百分比)
類別	
工作人員	61 (40.7)
病患	89 (59.3)
地區	
基隆	36 (24.0)
桃園	36 (24.0)
竹東	35 (23.3)
苗栗	43 (28.7)
年齡層	
29 歲以下	17 (11.3)
30-44 歲	40 (26.7)
45-64 歲	19 (12.7)
65 歲以上	74 (49.3)
性別	
女性	104 (69.3)
男性	46 (30.7)
是否有抽菸	
否	134 (86.0)
是	16 (10.7)
是否抽菸超過 10 年	
否	134 (86.0)
是	16 (10.7)
過去是否曾被診斷有 TB	
否	141 (94.0)
是	9 (6.0)

表二、危險因子分佈 (n=150)

變數	工作人員(n=61)	病患(n=89)
	%	%
Heart disease	0	14.6
Renal insufficiency	0	3.4
Asthma	1.6	9.0
COPD	0	14.6
bronchiectasis	0	3.4
Scoliosis	3.3	0.0
Kyphosis	0	1.1
Pulmonary fibrosis	0	6.7
Old CVA	0	33.7
Dementia	0	7.9
Parkinsonism	0	7.9
Hypoxic encephalopathy	0	11.2
Euromuscular disease	0	1.1
Diabetes	0	19.1
Hypertension	1.6	34.8
Malignancy	0	6.7
current steroid use*	3.3	11.2

*口服或針劑超過3周

Abbreviation: CVA (cerebral vascular accident), COPD (chronic obstructive pulmonary disease)

表三、QuantiFERON 及痰液檢驗結果 (n=117)

變數	工作人員(n=48) %	病患(n=69) %	p-value
AFS (1)			
Negative	95.8	76.8	
Positive	2.1	23.2	<0.001
Scanty	2.1	0	
AFS (2)			
Negative	97.9	78.3	<0.001
Positive	2.1	21.7	
AFS (3)			
Negative	97.9	79.7	<0.001
Positive	2.1	20.3	
NTM (1)			
No	97.9	52.1	
Yes	2.1	29.1	<0.001
Contaminate	0	18.8	
NTM (2)			
No	100	65.2	
Yes	0	20.3	<0.001
Contaminate	0	14.5	
NTM (3)			
No	100	66.7	
Yes	0	20.3	<0.001
Contaminate	0	13.0	
Diagnosed TB	2.1	1.4	1.000
QuantiFERON Result			
Negative	81.8%	69.3%	
Indeterminate	0%	5.7%	0.027
Positive	18.2%	25.0%	

Abbreviation: NTM (Nontuberculous Mycobacterium), AFS (Acid fast stain)

*QuantiFERON result 的人數為 143 名，其中工作人員 55 位(38.5%)、住民 88 位(61.5%)。

表四、與工作人員 QuantiFERON 檢驗相關因子

變數	QuantiFERON result		p-value
	Negative %	Positive %	
年齡(year) mean±SD	34.3±8.4	36.6±7.7	0.508
工作年資(year) mean±SD	6.5±3.0	8.5±2.2	0.209
抽菸	3.3	0.0	1.000
抽菸超過 10 年	3.3	0.0	1.000
Asthma	1.6	0.0	1.000
Scoliosis	3.3	0.0	1.000
Hypertension	1.6	0.0	1.000
current steroid use*	3.3	0.0	1.000

註：使用 t-test、卡方檢定或 fisher 精確檢定進行分析

*口服或針劑超過 3 周

表五、與病患 QuantiFERON 檢驗相關因子 (n=88)

變數	QuantiFERON result		p-value
	Negative %	Positive %	
年齡(year) mean±SD	75.8±15.6	77.5±15.7	0.732
男性	37.5	73.3	0.020
抽菸	15.6	33.3	0.252
抽菸超過 10 年	15.6	33.3	0.252
曾被診斷有 TB	9.4	20.0	0.367
Heart disease	12.5	13.3	1.000
Renal insufficiency	9.4	0	0.542
Asthma	12.5	20.0	0.657
COPD	18.8	20.0	1.000
bronchiectasis	3.1	6.7	0.550
Kyphosis	3.1	0	1.000
Pulmonary fibrosis	9.4	6.7	1.000
Old CVA	43.8	53.3	0.370
Dementia	6.3	6.7	1.000
Parkinsonism	6.3	6.7	1.000
Hypoxic encephalopathy	9.4	20.0	0.345
Euromuscular disease	3.1	0	1.000
Diabetes	25.0	40.0	0.292
Hypertension	43.8	60.0	0.173
Malignancy	6.3	6.7	1.000
current steroid use*	18.8	20.0	1.000

註：使用 t-test、卡方檢定或 fisher 精確檢定進行分析

*口服或針劑超過 3 周

Abbreviation: CVA (cerebral vascular accident), COPD (chronic obstructive pulmonary disease)

表六、各地區 QuantiFERON 篩檢陽性率 (n=143)

地區	所有人員	p-value	工作人員	p-value	病患	p-value
基隆	27.80%	0.277	10.00%	0.928	34.60%	0.226
桃園	30.00%		23.10%		35.3.20%	
新竹	17.10%		16.70%		17.40%	
苗栗	17.10%		20.00%		14.30%	
Average	22.30%		18.20%		26.50%	

附錄

病患問卷

問卷編號：□-□-2-□□

北台灣呼吸照護病房潛伏結核性 感染治療評估問卷調查

您好：

結核病是由結核桿菌感染所造成，若無適當治療，死亡率極高。即便未發病，亦會轉成潛伏結核感染危險群，待免疫功能較差時有可能會引發結核病。呼吸照護病房內之住民，由於環境及身體免疫力較差等特性，易成為結核病群聚感染的好發環境，相關工作人員之罹病風險亦值得審慎評估。現行對於潛伏結核感染並沒有好的篩檢機制，因此本計畫目的在於利用新的檢測方式(QuantiFERON Gold)針對呼吸照護病房內住民及工作人員進行潛伏結核感染篩檢，藉以擬定我國對於潛伏結核感染高危險族群監測模式。本計畫由行政院衛生署疾病管制局委託執行，請您協助填寫下列問卷，研究結果僅作為學術用途，不另作其他使用，敬請安心填答，非常謝謝您的協助與支持！

敬祝

身體健康 萬事如意

研究團隊

壠新醫院

胸腔內科 黃忠智醫師 謝國洲醫師

名詞定義

※ 潛伏結核性感染 (Latent tuberculosis infection, LTBI)

所有受感染人中，95%會因自身免疫力而未發病，但會有終身再活化的潛在危險，即所謂潛伏結核性感染。

※ QuantiFERON Gold

是偵測宿主 T 細胞在接觸肺結核抗原後所分泌的 interferon-gamma，是一種檢測肺結核的新篩檢工具，其敏感性與特異性均佳。

一、基本資料

01.姓名：_____

02.生日：西元_____年_____月_____日

03.性別： (0)女 (1)男

04.身高：_____公分

05.體重：_____公斤

06.住院起始日期：西元_____年_____月_____日

07.呼吸器開始使用日期：西元_____年_____月_____日

08.個案是否有吸菸習慣？ (0)否（請翻頁） (1)是（請續答
下題）

09.個案是否吸菸超過 10 年？ (0)否 (1)是 (2)不清楚

【請翻至下頁繼續作答】

二、個人過往疾病史

- | | | |
|-------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 01.個案是否患有鬱血性心衰竭或冠狀動脈疾病? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 02.個案是否患有腎功能不全? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 03.個案是否患有氣喘? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 04.個案是否患有慢性阻塞性肺病? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 05.個案是否患有支氣管擴張症? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| <hr/> | | |
| 06.個案是否患有脊椎側彎併限制性通氣障礙? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 07.個案是否患有脊椎後凸併限制性通氣障礙? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 08.個案是否患有肺纖維化? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 09.個案的昏迷指數：___分(3-15分) | | |
| 10.個案是否患有陳舊性腦中風? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| <hr/> | | |
| 11.個案是否患有失智症? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 12.個案是否患有巴金森氏症? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 13.個案是否患有缺氧性腦病變? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 14.個案是否患有神經肌肉相關疾病? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |
| 15.個案是否患有肝硬化? | <input type="checkbox"/> 0.否 | <input type="checkbox"/> 1.是 |

- 16.個案是否患有糖尿病? 0.否 1.是
- 17.個案是否患有高血壓? 0.否 1.是
- 18.個案是否患有惡性腫瘤? 0.否 1.是
- 19.個案是否患有紅斑性狼瘡或類風濕性關節炎? 0.否 1.是
- 20.個案是否使用類固醇藥物? (針劑或口服超過 3 周) 0.否 1.是
- 21.個案過去是否曾被診斷患有肺結核? 0.否 1.是

三、結核病相關檢查

- 01.個案篩檢抗酸性染色日期：西元_____年____月____日
- 02.個案痰液結核菌培養結果為? 0.陰性 1.陽性
- 03.個案痰液結核菌培養日期為：西元_____年____月____日
- 04.個案最近一次胸部 X 光檢查日期為：西元_____年____月____日
- 05.個案最近一次胸部 X 光報告結果為? 0.正常 1.異常或建議追蹤

【請翻至下頁續填寫受試者同意書】

北台灣呼吸照護病房潛伏結核性 感染治療評估問卷調查

您好：

結核病是由結核桿菌感染所造成，若無適當治療，死亡率極高。即便未發病，亦會轉成潛伏結核感染危險群，待免疫功能較差時有可能會引發結核病。呼吸照護病房內之住民，由於環境及身體免疫力較差等特性，易成為結核病群聚感染的好發環境，相關工作人員之罹病風險亦值得審慎評估。現行對於潛伏結核感染並沒有好的篩檢機制，因此本計畫目的在於利用新的檢測方式(QuantiFERON Gold)針對呼吸照護病房內住民及工作人員進行潛伏結核感染篩檢，藉以擬定我國對於潛伏結核感染高危險族群監測模式。本計畫由行政院衛生署疾病管制局委託執行，請您協助填寫下列問卷，研究結果僅作為學術用途，不另作其他使用，敬請安心填答，非常謝謝您的協助與支持！

敬祝

身體健康 萬事如意

研究團隊

壠新醫院

胸腔內科 黃忠智醫師 謝國洲醫師

名詞定義

※ 潛伏結核性感染 (Latent tuberculosis infection, LTBI)

所有受感染人中，95%會因自身免疫力而未發病，但會有終身再活化的潛在危險，即所謂潛伏結核性感染。

※ QuantiFERON Gold

是偵測宿主 T 細胞在接觸肺結核抗原後所分泌的 interferon-gamma，是一種檢測肺結核的新篩檢工具，其敏感性與特異性均佳。

一、基本資料

- 01.姓名：_____
- 02.生日：西元_____年_____月_____日
- 03.性別： (0)女 (1)男
- 04.工作年資：_____年（請計算於呼吸照護病房工作年資）
- 05.身高：_____公分
- 06.體重：_____公斤
- 07.最近一次員工體檢 X 光結果為： (0)正常 (1)不正常
- 08.您目前是否有吸菸習慣？ (0)否（請翻頁） (1)是（請續答下題）
- 09.您是否吸菸超過 10 年？ (0)否 (1)是

【請翻至下頁繼續作答】

二、個人過往疾病史

- | | | |
|---|-------------------------------|-------------------------------|
| 01. 您是否患有鬱血性心衰竭或冠狀動脈疾病? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 02. 您是否患有腎功能不全(Creatinine \geq 1.4mg/dL)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 03. 您是否患有氣喘(Asthma)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 04. 您是否患有慢性阻塞性肺病(COPD)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 05. 您是否患有支氣管擴張症(Bronchiectasis) ? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| <hr/> | | |
| 06. 您是否患有脊椎側彎(Scoliosis)併限制性通氣障礙? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 07. 您是否患有脊椎後凸(Kyphosis)併限制性通氣障礙? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 08. 您是否患有肺纖維化(Pulmonary fibrosis)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 09. 您是否患有陳舊性腦中風(Old CVA)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 10. 您是否患有失智症(Dementia)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| <hr/> | | |
| 11. 您是否患有巴金森氏症(Parkinsonism)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 12. 您是否患有缺氧性腦病變(Hypoxic encephalopathy)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 13. 您是否患有神經肌肉相關疾病(ALS 或 MG 等)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 14. 您是否患有肝硬化(Liver cirrhosis)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |
| 15. 您是否患有糖尿病(Diabetes)? | <input type="checkbox"/> 0. 否 | <input type="checkbox"/> 1. 是 |

16.您是否患有高血壓(Hypertension)? 0.否 1.

是

17.您是否患有惡性腫瘤(Malignancy)? 0.否 1.

是

18.您是否患有紅斑性狼瘡或類風濕性關節炎? 0.否 1.

是

19.您是否使用類固醇藥物? (針劑或口服超過 3 周) 0.否 1.

是

20.您過去是否曾被診斷患有肺結核? 0.否 1.

是

三、結核病相關檢查

01.您最近一次胸部 X 光檢查日期為：西元_____年_____月_____日

02.您最近一次胸部 X 光報告結果為? 0.正常 1.異常或建議追蹤

【請翻至下頁續填寫受試者同意書】

結核病防治診斷治療暨政策評估研究

分項計畫 7： 長期照護機構與榮民之家等之潛伏結核感染治療
照顧準則與方案

摘要

研究目的:

針對結核病特殊族群中的長期照護機構，運用皮膚結核菌素試驗(TST)或 Interferon- Release Assays (IGRAs, 丙型干擾素釋放試驗)之一的克肺癆-結核菌感染診斷組 (Quantiferon-TB Glod test, QFT-G 及 Quantiferon-TB Glod test in TB, QFT-IT)來進行接觸者與員工潛伏性結核病盛行率的調查，以期降低 65 歲以上老人的發病率。

研究方法:

計畫於民國 100 年內持續實施。進行北中南部地區境內至少兩家長期照護機構估計 150 位住民的檢查與後續追蹤。採主動方式發現結核病患者，進一步落實早期發現病人，治療病人的防疫策略。並配合結核菌素試驗或丙型干擾素檢測法，來為結核病接觸者進行感染的篩選及追蹤，若有潛隱性結核病患則給予 INH 9 個月的治療，希望完成至少 45 位潛隱性結核 INH 9 個月之治療，以評估該族群潛伏感染情形及治療副作用情形，作為政策參考。一方面進行新增群聚的篩檢，另一方面對於以往已調查的長照機構，進行後續的追蹤與治療，希望能減少長照機構結核病的發生機率。

主要發現:

目前已完成 301 位受試者的檢查，截至目前有 50 人正在接受 INH 9 個月的治療，大致情形良好。於 95~99 年間已做篩檢的 6 家長照機構進行後續追蹤，參加過 INH 9 個月治療的個案絕大多數無通報狀況發生，而通報個案多為新入住或其他區域之住民。

結論及建議事項:

結核病發病的三部曲，接觸以後感染，感染以後發病，我們以往皆只注重在已發病病患的防治，而目前國際間皆努力診斷潛隱性結核病患，一旦發現為潛隱性結核病患時，就給予 INH 9 個月的治療，以避免病患產生結核病發病的情形。我們在兩家長照機構進行潛隱性結核病患的治療，目前參加篩檢與治療之個案皆無結核新增病患的通報，且個案服藥配合性良好，除偶有精神不濟之狀況外無明顯副作用。目前疾管局正推行 13 歲以下孩童潛隱性結核病患的治療計畫，未來還希望能進一步推廣到其他族群，而由於台灣 65 歲以上老人肺結核的問題，特別需要防治，而這些 65 歲以上老人，除了居家由家人照顧之外，其餘的老人，大部分住在所謂的長照機構，也由於這些老人住於長照機構之中，可能有交叉感染的可能，必須加以防範。

關鍵字

長照機構 潛隱性肺結核 克肺癆-結核菌感染診斷組 丙型干擾素釋放試驗

前言

研究問題之背景與現況

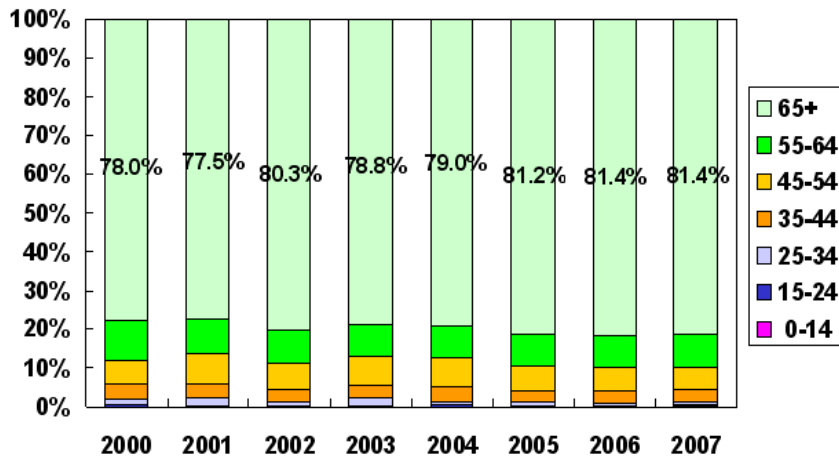
近來國內重要的傳染病除了新型流感(H1N1)廣受大家矚目之外，其實結核病多年以來一直就是我國公共衛生上的重要議題。為與國際接軌，衛生署疾管局研擬「結核病十年減半全民動員計畫」，廣納專家學者建言，結合公衛、醫療、檢驗三大網絡，以發現病人(Find TB)、治療病人(Cure TB)為主要策略，並發動民間組織及政府相關部門共同參與結核病防治。而要達到十年減半的目的，必須達到兩個條件，一個是希望能早期發現70%以上高危險個案，另一個是提升個案管理績效，個案完治率提高至85%以上。為了達成此一目標，必須多管齊下，包括配合疾病管制局結核病防治工作重點計畫中強化特定族群結核病監控及治療管理，而依照我們歷年的調查我們發現65歲以上的老人的結核病發生率明顯全國的發生率的一半以上，而且死亡率佔80%以上(圖一)，必須針對這一特殊族群提供結核防治改善方案。

台灣並於2006年四月開始全台灣的都治計畫，希望所有的痰抹片陽性與培養陽性的病患皆能在關懷員的觀察下服用藥物。而且目前還擴展至潛伏性結核病患，針對潛伏性結核病患提供INH 9個月的治療。

目前進行都治計畫的成績斐然，依據疾病管制局的統計資料，以全台灣而言，由2005年至2007年，新結核病患的通報率已下降近15%，由2005年的16472人下降至2007年的14480人。中部地區更下降近21%由2005年的3432人，下降到2007年的2708人。中部地區四縣市皆有下降，尤其以南投縣的下降比率最高，達34.83%。全國下降幅度最佳前五名的縣市分別為新竹縣市、南投縣、嘉義市和花蓮縣。全台灣的死亡率也下降19%。

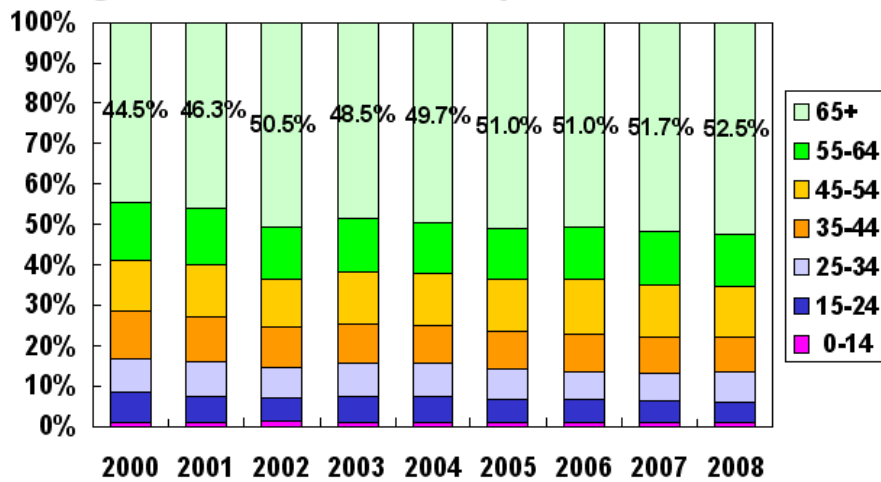
然而在2007年通報的14480位結核病患中，65-69歲有1,112位病患，而70歲以上的病患更高達6,365位，代表台灣新通報的個案中，65歲以上的長者，佔了一半以上(圖二)，2008年甚至更高達52.5%以上，而七十歲以上甚至八十歲以上所佔的比率更高(圖三)。若我們要進一步將新增的通報數降低，就必須針對65歲以上的長者，進行防疫的作為。

TB Death Cases by Age Groups in Taiwan



圖一、台灣 2000-2007 新增結核病患的死亡率，以年齡來作區分，65 歲以上佔 80%以上

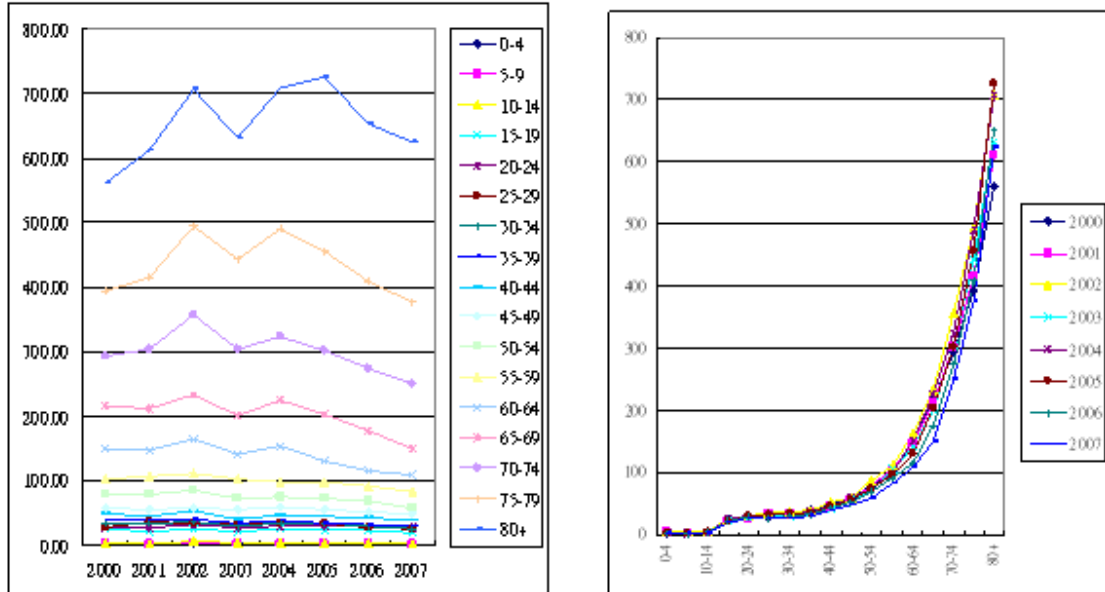
Age Distribution of Newly Confirmed Cases



圖二、台灣 2000-2008 新增結核病患，以年齡區分的分佈圖，65 歲以上的族群逐年增加，且佔新通報個案一半以上。

Age-specific TB Incidence

(1/10⁵)



圖三、台灣 2000-2007 新增結核病患，以年齡區分的趨勢圖，我們發現 65 歲以上，年齡愈大所佔的比率愈高。(80 歲以上>75-79 歲>70-74 歲>65-70 歲>60-64 歲)

目前潛伏性結核病患的治療，第一階段主要是針對 13 歲以下的病患，希望能減少此一年齡群的發病率，然而 13 歲以下的病患每年佔結核病發病率皆不到 1%。65 歲以上的病患每年佔結核病發病率約 52%，是台灣佔最多的年齡群。如何降低 65 歲以上的病患發病率，是當前我們必須解決的問題。而 65 歲以上的老人，除了居家之外，有一部分的老人都是住在長照機構。我們若能找出長照機構的結核病治療模式，再進一步推廣，如此就可以減少老年病患的產生。

1. 本計劃產生之背景及重要性

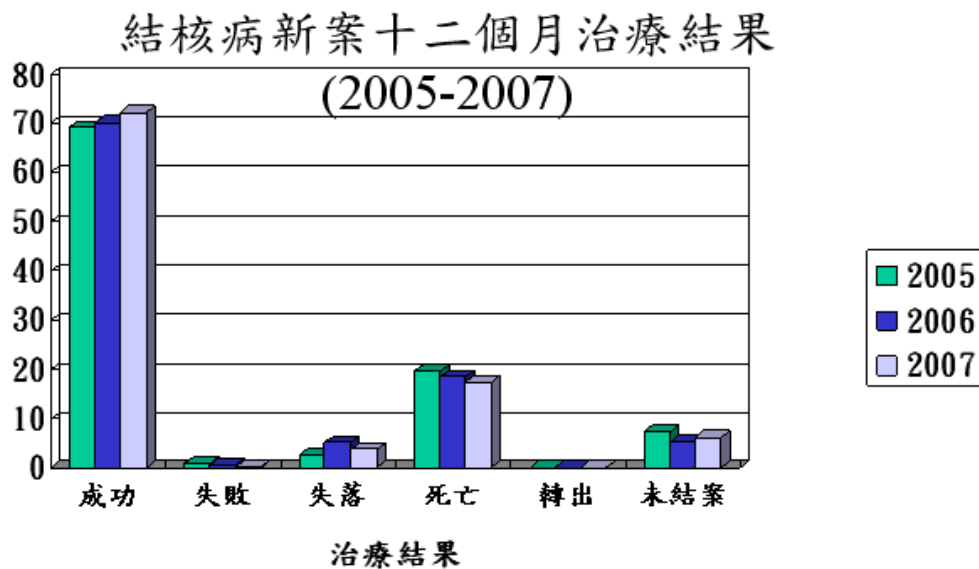
(1) 政策或法令依據

目前國際間正努力進行結核病十年減半計劃，希望在 2015 年全世界的結核病盛行率能減少一半，台灣身為世界的一員，我們也相當努力的進行結核病防治。疾病管制局也於 2006 年，正式提出了十年減半的計劃，希望每年投入相當的經費，來達到此一目標。而為了達到此一目標，必須符合兩大條件，就是完治率必須達到 85% 以上，新發現的結核病患痰抹片或培養陽性的病患必須達到 70%，主要的策略為發現病患，治療病患。如何早期發現結核病患，進一步早期治療是目前結核防疫相當重要的課題。而目前將邁入 2010 年，進入關建的第五年，目前新增的個案數雖有下降，但已遇到瓶頸，除了都治之外，還需其他的措施來加強結核病的防治。

(2) 問題狀況或發展需求

目前在台灣全面推行都治計畫，涵蓋率已達 92.1% 以上，然而完治率或治癒率僅有 70% 以上(圖四)，還達不到國際間認定可十年減半的標準(需達 85% 以上)，然而我們發現為何達

不到此一目標主要因為有高達 15-20% 的死亡率，雖然大部份為非結核死亡，然而一旦年長者得到結核病發，就很有可能會在治療當中因為各種原因死亡，釜底抽薪之策就是防範於未然，在病患雖已感染但還未發病之前，就給予治療，如此一來不僅新通報個案數會減少，病患的死亡率也會減少。



圖四、台灣 2005-2007 年結核病新案十二個月的治療結果

目前在台灣不管是發病率或死亡率都以 65 歲以上的老人居多，以 2007 年為例發病率，65 歲以上老人佔 52%，死亡率更高達 81.4% 以上，而老人除了居家照顧之外，就是在長照機構安養，如何由老人族群當中，早一點發現病人，甚至在潛伏的階段就加以偵測，未來是否可比照美國一樣，一但有潛伏感染時就加以治療，就可避免此一族群的發病率。如此一來才有可能做到十年減半的目標。

材料與方法

1. 研究對象: 選擇曾經有爆發結核病群聚者優先, 至少兩家長期照護機構。預計至少評估 150 位病患。
2. 此 301 人參加篩檢, 再以長期照顧機構中年齡超過 60-65 歲以上的為對象, 陽性率預估應可超過三成, 此計畫除了將預防結核病發生為主要目標之外, 還希望以治療副作用為主要目標, 將盡可能將所有陽性個案納入治療。排除條件: 1)HIV p't, 2)cancer 病人接受 C/T 期間, 3)autoimmune disease 或 organ transplantation 病人接受 immunosuppressent agents。
3. 資料收集
 - 甲、醫護人員: 性別、年齡、卡介苗疤數、職稱、工作場所、任職年資、過去病史、結核病接觸史。
 - 乙、長期照護機構
 - (A) 病患或住民: 性別、年齡、卡介苗疤數、住處、居住期間、過去病史、結核病接觸史。
 - (B) 照護相關工作人員: 性別、年齡、卡介苗疤數、職稱、工作場所、任職年資、過去病史、結核病接觸史。
 - (C) 原則上 latent TB 的病患並不會傳給其它人, 但也有可能 LTBI 的病患是由家人所感染。若研究經費允許, latent TB 之家人願意加入此研究亦可納入。
4. 步驟與方法
 - 甲、所有對象皆接受胸部 X 光檢查, 一年中安排至少一次以上。
 - 乙、配合長期照顧機構的胸部 x 光巡檢, 發掘疑似個案, 疑似個案並進行驗痰檢查包括抹片及培養, 確診個案必須接受診斷時三套痰檢查, 第三個月及第五個月及停藥前也必須有三套痰液的檢查。
 - 丙、接觸者進行結核菌素 PPD 皮膚試驗(TST): 採 PPD RT23 2tu/0.1ml Mantoux test, 皮內注射後, 48-72 小時判讀硬結橫徑大小記錄之, 如反應不呈圓型, 則記錄硬結長徑及短徑)。由受過訓的卡介苗工作人員負責測試及判讀, PPD 由疾病管制局免費供應。PPD 及 QFT 試劑檢查。PPD 在採血後 2 週內進行。
 - 丁、克肺癆 - 結核菌感染試管診斷組(QuantiFERON-Gold TB In tube test, QFT-IT)試驗: 先取病患 5cc 的全血, 置入抗凝瓶中, 再各取 1 cc 的全血分別加至 Mitogen 陽性對照管、TB 抗原管和 Nil 陰性對照管中, 並搖晃試管混合均勻十次, 在 37°C 中培養 16 到 24 小時後, 此時全血已分為兩層 (上層為血清, 下層為血漿), 用微量吸管小心取出血清, 並以 ELISA 測量是否產生 INF- γ 。若 TB 抗原的 INF- γ 值減去 NiL 陰性對照組的 INF- γ 值大於 0.35 IU/mL, 則為陽性代表有潛伏性結核病或結核菌感染。若 TB 抗原的 INF- γ 值減去 NiL 陰性對照組的 INF- γ 值小於 0.35 IU/mL, 且 Mitogen 陽性對照組的 INF- γ 值減去 NiL 陰性對照組的 INF- γ 值大於 0.5 IU/mL 則代表陰性。而 Mitogen 陽性對照組的 INF- γ 值減去 NiL 陰性對照組的 INF- γ 值小於 0.5 IU/mL 則為無法判斷 (indetermined)。由於試驗結果若為陽性代表有潛伏性結核病或結核菌感染, 需進行進一步的鑑定並進行分子流病分析與因果關係的釐清。
 - 戊、一旦有 QFT-IT 陽性者, 皆接受 INH9 個月的治療, 且皆由長照機構或關懷員看著

服藥，並記錄是否有副作用的情形。對於副作用的評估，將使用疾管局對於 LTBI 治療的服藥記錄表(DOPT 日誌)。服藥的病患，在初次治療與前兩個月之後，及最後完治之後，將配合健保進行肝功能(SGOT, SGPT 與 total bilirubin)的檢查。

對於 baseline 肝功能異常病人，可依照下列原則來調藥，若

- 1) baseline < 2 倍 → 投藥
- 2) baseline 3 - 5 倍 → 有 S/S，暫不投藥，查原因
→ 無 S/S，投藥
- 3) baseline > 5 倍 → 不投藥，查原因

在服藥前、服藥後三個禮拜、三個月、六個月以及九個月最後完治之後確認肝功能，其餘時間每月定期由醫師評估病況，隨時增加肝功能追蹤

依據治療台灣結核診治指引，若 SGOT, SGPT 上升

- 1) 3 - 5 倍 → 有症狀(S/S)，停藥 S/S 包括:食慾差，倦怠
→ 無 S/S，Observe
- 2) > 5 倍 → 停藥

另外若病患有黃疸(total bilirubin>2)時，也需停藥。

本計畫會在執行前後比較當地區域(中區)的 INH resistance 的 prevalence 及分析 INH 引起肝功能異常的比率。

QFT-IT 陽性族群分為兩個組，已接受 INH 治療者為一組，另一組為因為個人因素或副作用因素沒有使用 INH 治療者，並做定期追蹤，以利評估其疾病發生率及分析成本效益。

結果

第一部份：兩家長照機構長期養護中心 QFT-IT&TT 試驗

本研究計畫篩檢人數、基本資料：

一、研究對象之基本資料：

● 性別及年齡：

本研究以宜 0 護理之家與嘉義的嘉義 00 護理之家共兩家長照機構之住民與員工為主(表一)。

● 依機構分別：

彰化的宜 0 護理之家住民有 18 人(62.07%)，員工有 11 人(37.93%)，共 29 人(9.63%)；嘉義的嘉義 00 護理之家住民/家屬有 131 人(21.0%)，員工/醫護人員有 141 人(43.7%)，共 272 人(90.37%)。

● 依身分分別：

在 100 年度有參加 QFT-IT 檢驗的 2 間長照機構中，住民/家屬有 157 人，其中男性有 142 人 (90.4%)，女性有 15 人 (9.60%)。年齡分佈 41-50 歲有 3 人(1.9%)；51-60 歲有 6 人(3.8%)；61-70 歲有 4 人(2.5%)；81-90 歲有 29 人(18.5%)；>90 歲有 101 人(64.3%)。

員工/醫護人員有 144 人，其中男性有 8 人(5.6%)，女性有 136 人 (94.4%)。年齡分佈為 21-30 歲有 48 人(33.3%)；31-40 歲有 42 人 (29.2%)；41-50 歲有 26 人(18.1%)；51-60 歲有 23 人(16%)；61-70 歲有 5 人(3.5%)。而住民/家屬平均年齡為 82.07±9.01 歲，員工/醫護人員平均年齡為 38.08±11.81 歲。

表一、本研究樣本之基本資料分布 (N=301)

	長期養護中心		合計 (n=301)
	住民/家屬 (n=157)	員工/醫護人員 (n=144)	
長期照護機構			
嘉義 00 醫院附設護理之家	139 (88.5%)	133 (92.4%)	272 (90.4%)
彰化宜 0 護理之家	18 (11.5%)	11 (7.6%)	29 (9.6%)
性別			
男	142 (90.4%)	8 (5.6%)	150 (49.8%)
女	15 (9.6%)	136 (94.4%)	151 (50.2%)
年齡			
21-30 歲	0 (0.0%)	48 (33.3%)	48 (15.9%)
31-40 歲	0 (0.0%)	42 (29.2%)	42 (14.0%)

41-50 歲	3 (1.9%)	26 (18.1%)	29 (9.6%)
51-60 歲	6 (3.8%)	23 (16.0%)	29 (9.6%)
61-70 歲	4 (2.5%)	5 (3.5%)	9 (3.0%)
81-90 歲	29 (18.5%)	0 (0.0%)	29 (9.6%)
>90 歲	101 (64.3%)	0 (0.0%)	101 (33.6%)

註：表中 (%) 為 col %.

二、研究對象 X 光檢驗：

針對兩個機構 301 個個案進行 X 光篩檢，如表二所示，159 位住民/家屬中有 1 人尚未受診，56 人(35.4%)無異常，9 人(6.0%)有疑似 TB 異常情形，另 93 人(58.9%)則為其他異常；而員工/醫護人員 142 人中有 13 人尚未受檢，無異常者有 119 人(92.2%)，其他異常有 10 人(7.8%)，但無疑似 TB 異常情形。整體來看 301 位受檢者中，無異常者有 175 人(61%)，疑似 TB 異常者有 9 人(3.1%)，其他異常者有 103 人(35.9%)。

表二、樣本經胸部 X 光檢查之診斷結果

胸部 X 光診斷	長期養護中心		合計 (n=301)
	住民 (n=159)	員工 (n=142)	
未受診	1	13	14
無異常	56 (35.4%)	119 (92.2%)	175 (61%)
TB異常	9 (5.7%)	0 (0.0%)	9 (3.1%)
其他異常	93 (58.9%)	10 (7.8%)	103 (35.9%)
受診數	158	129	287

註：表中(%)為 col %.

三、結核菌素皮膚試驗結果

100 年度參加結核菌素皮膚試驗者住民/家屬有 126 人(佔住民之 80.3%)，員工/護理人員則有 46 人(佔員工之 31.9%)。(表三)

若以機構區分，嘉義 OO 醫院附設護理之家之受檢者則在 98-100 年度陸續接受結核菌素皮膚試驗，住民/家屬有 108 人(77.7%)，員工/醫護人員則有 35 人(26.3%)，其餘有 129 人未接受結核菌素皮膚試驗，其中有 31 人(22.3%)為住民/家屬，98 人(73.7%)為員工/醫護人員；彰化宜 O 護理之家的結核菌皮膚試驗受檢者中，住民/家屬有 18 人(100%)，員工/醫護人員則有 11 人(100%)。

表三、本研究樣本接受結核菌素皮膚試驗之人數 (%)

長期養護機構	結核菌素 皮膚試驗 受檢年份	長期養護中心		合計 (n=301)
		住民/家屬 (n=157)	員工/醫護人員 (n=144)	
嘉義00醫院附設護理之家	98年	25 (18.0%)	15 (11.3%)	40 (14.7%)
	99年	19 (13.7%)	3 (2.3%)	22 (8.1%)
	100年	108 (77.7%)	23 (17.3%)	131 (48.2%)
合計	受檢人數	108 (77.7%)	35 (26.3%)	143 (52.6%)
	未受檢人數	31 (22.3%)	98 (73.7%)	129 (47.4%)
彰化宜0護理之家	100年	18 (100%)	11 (100%)	29 (100%)
總計	受檢人數	126 (80.3%)	46 (31.9%)	172 (57.1%)
	未受檢人數	31 (19.7%)	98 (68.1%)	129 (42.9%)

註：表中(%)為 col %.

172 位受檢者進行結核菌素皮膚試驗後之結果(表四)，分別以 10mm 以及 15mm 作為 cut off 值。當以 10mm 為 cut off 值時，陰性者共 110 人(63.95%)，陽性者共 62 人(36.05%)。而當以 15mm 為 cut off 值時，陰性者共 125 人(72.7%)，陽性者共 62 人(27.3%)。

當以 10mm 為 cut off 值時，嘉義 00 醫院附設護理之家 143 位皮膚試驗受試者中，陰性有 91 位，其中住民/家屬有 84 位(77.8%)，員工/醫護人員有 7 位(20%)；陽性者有 52 人，其中住民/家屬有 24 位(22.2%)，員工/醫護人員有 28 位(80%)。

彰化宜 0 護理之家 29 位皮膚試驗受試者中，陰性有 19 位，其中住民/家屬有 14 位(77.8%)，員工/醫護人員有 5 位(45.5%)；陽性者有 10 人，其中住民/家屬有 4 位(22.2%)，員工/醫護人員有 6 位(54.5%)。

而當以 15mm 為 cut off 值時，嘉義 00 醫院附設護理之家 143 位皮膚試驗受試者中，陰性有 105 位，其中住民/家屬有 88 位(81.5%)，員工/醫護人員有 17 位(48.6%)；陽性者有 38 人，其中住民/家屬有 20 位(69%)，員工/醫護人員有 9 位(31%)。

彰化宜 0 護理之家 29 位皮膚試驗受試者中，陰性有 20 位，其中住民/家屬有 15 位(83.3%)，員工/醫護人員有 5 位(45.5%)；陽性者有 9 人，其中住民/家屬有 3 位(16.7%)，員工/醫護人員有 6 位(54.5%)。

表四、本研究樣本接受結核菌素皮膚試驗 (T.T) 之結果

長期養護機構	結核菌素皮膚試驗		長期養護中心		合計 (n=172) #
	Cut off	結果	住民/家屬 (n=126) #	員工/醫護人員 (n=46) #	
嘉義OO醫院附設護理之家	10	陰性	84 (77.8%)	7 (20.0%)	91 (63.6%)
		陽性	24 (22.2%)	28 (80.0%)	52 (36.4%)
彰化宜O護理之家	10	陰性	14 (77.8%)	5 (45.5%)	19 (65.5%)
		陽性	4 (22.2%)	6 (54.5%)	10 (34.5%)
合計	10	陰性	98 (77.8%)	12 (26.1%)	110 (64.0%)
		陽性	28 (22.2%)	34 (73.9%)	62 (36.0%)
嘉義OO醫院附設護理之家	15	陰性	88 (81.5%)	17 (48.6%)	105 (73.4%)
		陽性	20 (18.5%)	18 (51.4%)	38 (26.6%)
彰化宜O護理之家	15	陰性	15 (83.3%)	5 (45.5%)	20 (69.0%)
		陽性	3 (16.7%)	6 (54.5%)	9 (31.0%)
合計	15	陰性	103 (81.7%)	22 (47.8%)	125 (72.7%)
		陽性	23 (18.3%)	24 (52.2%)	47 (27.3%)

註：表中(%)為 col %。 #：TT 受檢人數參閱表三

四、QFT-IT 試驗結果

100 年度進行 QFT-IT 試驗(表五)的 301 人中，結果呈陽性的有 76 人(25.2%)，其中住民/家屬有 49 人(31.2%)，員工/醫護人員有 27 人 18.8%)；陰性的有 220 人(73.1%)，其中住民/家屬有 103 人(65.6%)，員工/醫護人員有 117 人(81.3%)；不確定的則有 5 人(1.7%)，五位皆為住民/家屬。

嘉義 OO 醫院附設護理之家 272 名受檢者中，QFT-IT 結果為陰性者有 198 人(72.8%)，其中 89 名(64%)為住民/家屬，109 名(82%)為員工/醫護人員，結果為陽性者有 69 人(25.4%)，其中 45 人(32.4%)為住民/家屬，24 人(%)為員工/醫護人員。

彰化宜 O 護理之家 29 名受檢者中 QFT-IT 結果為陰性者有 22 人(75.9%)，其中 14 名(77.8%)為住民/家屬，8 名(72.7%)為員工/醫護人員，結果為陽性者有 7 人(24.1%)，其中 4 人(22.2%)為住民/家屬，4 人(27.3%)為員工/醫護人員。

表五、本研究樣本經 QuantiFERON-TB Gold 試驗之診斷結果

長期養護機構	身份	QuantiFERON-TB Gold 試驗結果			Total
		陰性 Negative	不確定 Indeterminate	陽性 Positive	
嘉義OO醫院附設護理之家	住民/家屬	89 (64.0%)	5 (3.6%)	45 (32.4%)	139
	員工/醫護人員	109 (82.0%)	0 (0.0%)	24 (18.0%)	133
	合計	198 (72.8%)	5 (1.8%)	69 (25.4%)	272
彰化宜O護理之家	住民/家屬	14 (77.8%)	0 (0.0%)	4 (22.2%)	18
	員工/醫護人員	8 (72.7%)	0 (0.0%)	3 (27.3%)	11
	合計	22 (75.9%)	0 (0.0%)	7 (24.1%)	29
總計	住民/家屬	103 (65.6%)	5 (3.2%)	49 (31.2%)	157
	員工/醫護人員	117 (81.3%)	0 (0.0%)	27 (18.8%)	144
	合計	220 (73.1%)	5 (1.7%)	76 (25.2%)	301

註：表中(%)為 row %.

將受試者身分與結核菌素皮膚試驗與 QFT-IT 試驗結果進行分析(表六)，判別是否身分別會影響此兩試驗之結果，而在結核菌素皮膚試驗中在 cut off 值為 10mm 時，Relative Risk 值為 3.32，p 值<.0001；而在 cut off 為 15mm 時，Relative Risk 值為 2.86，p 值則<0.001，表無論 cut off 為 10 或 15mm，其結果與身分別是有達顯著相關性。在 QFT-IT 試驗中，R.R 值為 0.58，而 p 值為 0.024，不具有顯著差異，表 QFT-IT 的結果在本次試驗中與身分別是無顯著相關性。

表六、研究樣本身份別與結核菌素皮膚 (T.T)、QuantiFERON-TB Gold 試驗結果的關係

身份別	試驗結果			R.R	p值
	陰性	陽性	陽性率		
結核菌素皮膚 (T.T) 試驗					
Cut off 10	養護中心住民	98	28	22.2%	Referent
	養護中心員工	12	34	73.9%	3.32 <0.001***
Cut off 15	養護中心住民	103	22	18.3%	Referent
	養護中心員工	23	24	52.2%	2.86 <0.001***
QuantiFERON-TB Gold 試驗					
	養護中心住民	103	49	32.2%	Referent
	養護中心員工	117	27	18.8%	0.58 0.024*

註： R.R：Relative Risk

第二部份：INH 九個月用藥肝功能監測

QFT-IT 試驗結果嘉義 OO 醫院附設護理之家為陽性的受檢者 69 人，加上皮膚試驗陽性自願加入用藥治療者 5 人，一共 74 人，扣除因離職(1 人)、拒絕(1 人)、死亡(1 人)，old TB(8 人)，治療過而不參加用藥治療(5 人)的 16 名個案，加入試驗者共 58 人，而另一機構的 7 位陽性者則尚未開始進行投藥。再進行治療的過程中，預計在治療前、第三週、第三個月、第六個月以及完成治療的第九個月進行肝功能(GOT、GPT、bil.T)的檢測(表七)。

GOT 的追蹤，在服藥前共有 58 人接受檢測，1 人因請假而未驗，平均值為 26.35±19.29，最高 153 最低 12，最高者因死亡而無用藥，且有另一個案死亡而無繼續追蹤；在第 3 週有 56 人接受檢測，平均值為 27.43±22.87，最高 186 最低 9，有 2 人因肝功能數值升高而暫停用藥，4 人因其他原因死亡而無繼續追蹤；第 3 個月有 49 人參加檢測(其中 2 人為停藥後續追蹤肝功能)，其中有 3 人請假尚未接受檢驗，平均 28.91±17.96，最高 550 最低 13，其中一人肝功能過高而暫時停藥。

GPT 的追蹤，在服藥前共有 58 人接受檢測，平均值為 25.82±31.39，最高 246 最低 5；在第 3 週有 56 人接受檢測，平均值為 31.29±34.82，最高 253 最低 5；第 3 個月有 49 人參加檢測，其中有 3 人請假尚未接受檢驗，平均 49.45±172.25，最高 1228 最低 5，其中 1 人因肝

功能過高而暫時停藥。

而 bil.T 的追蹤方面，在服藥前共有 58 人接受檢測，平均值為 0.51 ± 0.29 ，最高 1.8 最低 0.1；在第 3 週有 56 人接受檢測，平均值為 0.51 ± 0.21 ，最高 1.2 最低 0.2；第 3 個月有 49 人參加檢測，平均 0.57 ± 0.31 ，最高 1.9 最低 0.2。

表七、本研究個案接受 INH 藥物治療之用藥前及用藥後肝功能檢測

嘉義 OO 醫院附設護理之家 (n=74)		
身份		
住民/家屬	50	(67.6%)
員工/醫護人員	24	(32.4%)
肝功能檢驗		
GOT		
服藥前	58	26.35 ± 19.29 (12-153)
服藥後第三週	56	27.43 ± 22.87 (9-186)
服藥後第 3 個月	49	37.59 ± 75.51 (13-550)
GPT		
服藥前	58	25.82 ± 31.39 (5-246)
服藥後第三週	56	31.29 ± 34.82 (5-253)
服藥後第 3 個月	49	49.45 ± 172.25 (5-1228)
bil-T		
服藥前	58	0.51 ± 0.29 (0.1-1.8)
服藥後第三週	56	0.51 ± 0.21 (0.2-1.2)
服藥後第 3 個月	49	0.57 ± 0.31 (0.2-1.9)

第三部份：98~99 年期間篩檢六家長照機構之後續追蹤

95~100 年期間六家長照機構 TB 個案通報數

本研究包括台中的凱 O 護理之家、埔里的迦 O 精神養護中心、彰化的慈 O 養護中心、洪 OO 護理之家、宜 O 護理之家與嘉義的嘉義 O 護理之家共六家長照機構於 95 年至 100 年間於機構中肺結核通報數及銷案狀態（表八）。依年度分別：

在 95 年期間共有 2 位 TB 通報個案，台中的凱 O 護理之家、埔里的迦 O 精神養護中心、彰化的宜 O 護理之家、彰化的洪 OO 護理之家與嘉義 OO 醫院附設護理之家 TB 通報個案數皆為 0 位；彰化的慈 O 養護中心 TB 通個案報數為 2 位，其中 1 位完治，1 位死亡；彰化的洪 OO 護理之家 TB 通個案報數為 8 位，8 位且都完治。

在 96 年期間共有 20 位 TB 通報個案，台中的凱 O 護理之家、埔里的迦 O 精神養護中心 TB 通報個案數皆為 0 位；彰化的慈 O 養護中心 TB 通個案報數為 2 位，其中 1 位完治，1 位排除；彰化的宜 O 護理之家 TB 通個案報數為 1 位，並且完治；彰化的洪 OO 護理之家 TB 通個案報數為 10 位，其中 6 位完治，4 位排除；嘉義的 OO 護理之家 TB 通個案報數為 7 位，其中 1 位在案中，3 位完治，3 位死亡。

在 97 年期間共有 13 位 TB 通報個案，台中的凱 O 護理之家 TB 通報個案數為 1 位且在案中；埔里的迦 O 精神養護中心 TB 通報個案數為 1 位且完治；彰化的慈 O 養護中心 TB 通個案報數為 5 位，其中 2 位完治，2 位排除，1 位死亡；彰化的宜 O 護理之家 TB 通個案報數為 2 位，其中 1 位完治，1 位排除；彰化的洪宗鄰護理之家 TB 通個案報數為 2 位，2 位排除；嘉義的 OO 護理之家 TB 通個案報數為 2 位，2 位死亡。

在 98 年期間共有 19 位 TB 通報個案，台中的凱 O 護理之家 TB 通報個案數為 3 位，3 位死亡；埔里的迦 OO 精神護理之家 TB 通報個案數為 3 位，其中 2 位完治，1 位在案中；彰化的慈 O 養護中心 TB 通報個案數為 3 位，其中 2 位完治，1 位在案中；彰化的宜 O 護理之家 TB 通個案報數為 3 位，3 位排除；彰化的洪 OO 附設護理之家 TB 通個案報數為 1 位，已死亡；嘉義 OO 醫院附設護理之家 TB 通個案報數為 6 位，其中有 4 位在案中，1 位完治，1 位死亡。而在彰化的慈 O 養護中心 QFT 陽性者中，經追蹤後，TB 通報個案數新增 2 位，分別於 99 年度 1 位完治，1 位死亡。

在 99 年度期間，台中的凱 O 護理之家、埔里的迦 O 精神護理之家、彰化的慈 O 養護中心、彰化的宜 O 護理之家以及彰化的洪 OO 附設護理通報數為 0；但嘉義 OO 醫院附設護理之家通報個案數為 19 位，2 位為 98 年篩檢區域之個案，而其中 1 位為去年有參加 QFT-IT 篩檢的住民，目前抹片結果為陽性，TB-PCR 為陰性，培養結果尚未發布，另 1 位則是未參加篩檢的個案；其餘 17 位皆為其他區域為篩檢之個案。

在 100 年度截至目前為止，埔里的迦 O 精神護理之家通報人數為 0 人；彰化的慈 O 養護中心與台中的凱 O 護理之家各通報 1 人(皆為新入住的住民)；彰化的宜 O 護理之家通報人數為 1 人，後改診斷為 NTM；彰化的洪 OO 附設護理通報數為 2 人，皆已結案(1 人完治，1 人死亡，後者曾參加過 QFT-IT 檢驗為陽性，但未參加用藥治療)；嘉義 OO 醫院附設護理之家通報個案數為 9 位，其中 1 位為有參加過 QFT-IT 篩檢的住民，於今年三月通報，六月因死亡而結案，此個案結束 LTBI 用藥療程與通報時間有半年的間隔後通報，其餘 8 位皆為不同區域之個案。

表八、95~100 年度 TB 個案通報數及銷案狀態

年度	TB 個案	台中	埔里	彰化	彰化	彰化	嘉義	合計
		凱 0 護理之家	迦 0 精神養護	慈 0 養護中心	宜 0 護理之家	洪 00 附設護理之家	嘉 義 00 醫 院 附 理 設 之 家	
95	通報數	0	0	2	0	8	0	10
	排除							
	在案中							
	完治			1		8		
	死亡			1				
96	通報數	0	0	2	1	10	7	20
	排除			1		4		
	在案中						1	
	完治			1	1	6	3	
	死亡						3	
97	通報數	1	1	5	2	2	2	13
	排除			2		2		
	在案中	1						
	完治		1	2	1			
	死亡			1	1		2	
98	通報數	3	3	5	3	1	6	21
	排除				3			
	在案中		1	0			4	
	完治		2	4			1	
	死亡	3		1		1	1	
99	通報數	0	0	0	0	0	19*	19
	排除							

	在案中							
	完治							
	死亡							
100	通報數	1	0	5	1	2	9	18
	排除			3**	1		1*	
	在案中	1**		1**			3*	
	完治					1**		
	死亡			1**		1**	5* [◎]	

*：非參加篩檢區域之個案，

**：新住民(無參加 LTBI 篩選、治療或為外院轉入個案)

***：改診斷之個案

◎：其中一位參加過篩檢並實施 LTBI 治療

討論

近四年來已有相當多的文章討論 QFT 試驗與結核菌素皮膚測驗¹⁻⁶，如 Brock 等學者嘗試比較此一 QFT 試驗與結核菌素皮膚測驗，並試著瞭解卡介苗是否會影響此一 QFT 試驗的結果，發現在所有 45 人高危險性，但沒有接受過卡介苗疫苗的樣本中，結核菌素皮膚測驗有 25 人（56%）為陽性反應，而 QFT 試驗則有 24 人（53%）為陽性反應，有高達 94% 的一致性，另外有 8 人接受過卡介苗疫苗的樣本中，有四人為陽性（50%）；而在 40 人低危險性，但沒有接受過卡介苗疫苗的樣本中，結核菌素皮膚測驗僅有 4 人（10%）為陽性反應，而 QFT 試驗則僅有 2 人（5%）為陽性反應，其一致性為 95%，另外有 32 人接受過卡介苗疫苗的樣本中，也僅有兩人為陽性（6%）。由他們的結果可以看出，在沒有接種過卡介苗疫苗的樣本中，結核菌素皮膚測驗與 QFT 試驗有高達 94% 以上的一致性，而 QFT 試驗在高危險或低危險族群中不管是否接受過卡介苗疫苗，其陽性率皆非常接近，代表 QFT 試驗較不受卡介苗疫苗的影響，可運用於台灣地區這樣高度接種卡介苗疫苗注射的國家。然而在 2005 年韓國學者試著在施打卡介苗盛行的韓國，進行結核菌素與 QFT 的比較，他們發現結核菌素與 QFT 之間的一致性並不好，只有 50% 的一致性，與我們之前的研究相當，表示結核菌素的結果，的確會受到卡介苗的影響。在這些國家使用結核菌素與 QFT 來診斷潛伏肺結核個案，必須注意瞭解這兩個檢驗試劑結果的判讀，目前國際間對於這兩個試劑的結果，可區別為：(1).結核菌素試驗陰性，而 QFT 亦為陰性，此類病患並未感染結核病；(2).結核菌素試驗陽性，而 QFT 為陰性，此類病患雖感染結核病，但為健康的感染者，或者卡介苗所造成的影響；(3).結核菌素試驗陽性，而 QFT 為陽性，此類病患感染結核病，且為危險的感染者（有可能會發病）；(4).結核菌素試驗陰性，而 QFT 為陽性，此類族群對於結核菌素皮膚試驗失能（anergy）雖感染結核病，但為健康的感染者。⁷⁻⁹

Mori 此位日本學者於 2006 年 12 月曾來台灣演講，他曾運用 QFT 試驗來檢驗活動性肺結核感染的病患，他們發現敏感度可達 89%，特異性高達 98.1%，更讓人驚訝的是對於 80 歲以上的老人，敏感度仍可達 80%。¹⁰ 而榮民是台灣地區特殊的族群，他們平均年齡皆在 65 歲以上，沒有接受卡介苗預防接種，故結核菌素試驗並不會受卡介苗的影響，而榮家則為榮民群聚的場所，有可能有群聚感染的可能。¹¹⁻¹³

我們之前也曾發表多重抗藥病患的接觸者¹⁻⁶，使用皮膚試驗與 QFT-GIT 來追蹤。發現其指標個案通常為其長輩（父母或祖父母），且大部分為同處一室，其中有 46.1% 有感染結核分枝桿菌（皮膚試驗為陽性），19.2% QFT-GIT 試驗陽性，代表為潛隱性結核病患，這些接觸者為發病的高危險群，應密切追蹤胸部 X 光，或直接給予多重抗藥潛隱性結核之治療。

多重抗藥結核病患接觸者的皮膚試驗陽性率為 46.1%，比一般認知的 30% 的結核病接觸者感染率為高。而其中 19.2% 為 QFT-G 試驗陽性為發病的高危險群，應更仔細追蹤，QFT-G 陽性的族群中結核菌素皮膚試驗的平均值為 14.69 mm 明顯高於 QFT-G 陰性的皮膚試驗的平均值 7.79 mm ($P < 0.001$)。QFT-G 陽性的接觸者，百分之八十皮膚試驗也是陽性。在親密的接觸者中甚至有 91% 的多重抗藥結核病的接觸者願意接受潛隱性結核的治療。

到目前為止，我們今年度針對兩家長照機構共 301 位受試者，由於嘉義 OO 醫院附設護理之家部分 125 位受檢者因個案死亡(1 人)、請假(1 人) 或是不願參加(123 人)，而無進行結核菌皮膚試驗，有 2 人因懷孕而未參加胸部 X 光檢驗；彰化宜 O 護理之家 12 名個案 X 光資料調閱申請中，因此目前有完整基本資料與胸部 X 光結果及 TT 與 QFT-IT 資料共 162 位。

今年度已有 50 位繼續接受 INH 的治療，未來將有更多住民或醫療照護人員接受 INH

的治療。我們希望一年後，若經費許可的情況下，我們將再進行第二年度的 QFT-IT 與皮膚試驗檢查，並從中了解原本為 QFT-IT 陰性的族群中有多少比率轉為陽性，就可了解此一族群新的感染率是否會因 INH 治療後使得 LTBI 而減少，以證實此一策略是否可用於長照機構的結核防治作為。

結論與建議

結核病發病的三部曲，接觸以後感染，感染以後發病，我們以往皆只注重在已發病病患的防治，而目前國際間皆努力診斷潛隱性結核病患，一旦發現為潛隱性結核病患時，就給予 INH 9 個月的治療，以避免病患產生結核病發病的情形。我們在六家長照機構進行潛隱性結核病患的治療，已達成完治階段，曾參加過 INH 9 個月治療的個案絕大多數無通報狀況發生，而通報個案多為新入住或其他區域之住民。目前疾管局正推行 13 歲以下孩童潛隱性結核病患的治療計畫，未來還希望能進一步推廣到其他族群，而由於台灣 65 歲以上老人肺結核的問題，特別需要防治，而這些 65 歲以上老人，除了居家由家人照顧之外，其餘的老人，大部分住在所謂的長照機構，也由於這些老人住於長照機構之中，可能有交叉感染的可能，必須加以防範。

我們建議執行的流程如下：當有長照機構疑似群聚肺結核通報的時候，衛生局與地段護士先進行接觸者的篩檢，包括胸部 x 光檢查與皮膚試驗檢查，若有疑似肺結核病患，則加驗痰液三套。若有抹片或培養陽性者則當肺結核先行治療，而其他病患，則依據皮膚試驗結果，若無疤，則以 10 mm 為標準，若 ≥ 10 mm 以上為陽性，應接受潛隱性結核的治療，若有疤則以 15 mm 作為標準，若 ≥ 15 mm 以上為陽性，應接受潛隱性結核的治療。若經費許可則所有的接觸者接受 QFT-IT 的檢查，QFT-IT 陽性者接受潛隱性結核的治療，治療中的病患會在投藥後，於第 3、12、24、36 週確認肝功能 (SGOT, SGPT 與 total bilirubin)，以確保在治療期間給予 INH 之用藥安全。

計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

我們建議執行的流程如下：當有長照機構疑似群聚肺結核通報的時候，衛生局與地段護士先進行接觸者的篩檢，包括胸部 x 光檢查與皮膚試驗檢查，若有疑似肺結核病患，則加驗痰液三套。若有抹片或培養陽性者則當肺結核先行治療，而其他病患，則依據皮膚試驗結果，若無疤，則以 10 mm 為標準，若 ≥ 10 mm 以上為陽性，應接受潛隱性結核的治療，若有疤則以 15 mm 作為標準，若 ≥ 15 mm 以上為陽性，應接受潛隱性結核的治療。若經費許可則所有的接觸者接受 QFT-IT 的檢查，QFT-IT 陽性者接受潛隱性結核的治療，治療中的病患會在投藥後，於第 3、12、24、36 週確認肝功能 (SGOT, SGPT 與 total bilirubin)，以確保在治療期間給予 INH 之用藥安全。而由以往我們進行的六家長照機構的經驗，新通報的結核個案皆是新住民或由外院轉來，原本的住民有加入我們篩檢的，QFT-IT 陽性且接受 LTBI 治療者，直到目前為止並無任何發病的案例，當可證實此一策略的確可用於長照機構的結核防治作為。

參考文獻

1. Wiwanitkit V. Field QuantiFERON-TB gold test. *Am J Infect Control* 2011;39:447.
2. Lee SW, Oh DK, Lee SH, et al. Time interval to conversion of interferon-gamma release assay after exposure to tuberculosis. *Eur Respir J* 2011;37:1447-1452.
3. Lee JE, Kim HJ, Lee SW. The clinical utility of tuberculin skin test and interferon-gamma release assay in the diagnosis of active tuberculosis among young adults: a prospective observational study. *BMC Infect Dis* 2011;11:96.
4. Chen DY, Shen GH, Chen YM, et al. Interferon-inducible protein-10 as a marker to detect latent and active tuberculosis in rheumatoid arthritis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2011;15:192-200.
5. Chen DY, Shen GH, Chen YM, et al. Biphasic emergence of active tuberculosis in rheumatoid arthritis patients receiving TNF {alpha} inhibitors: the utility of IFN {gamma} assay. *Ann Rheum Dis* 2011.
6. Huang YW, Shen GH, Lee JJ, et al. Latent tuberculosis infection among close contacts of multidrug-resistant tuberculosis patients in central Taiwan. *Int J Tuberc Lung Dis* 2010;14:1430-1435.
7. Idh J, Abate E, Westman A, et al. Kinetics of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test during treatment of patients with sputum smear-positive tuberculosis in relation to initial TST result and severity of disease. *Scand J Infect Dis* 2010;42:650-657.
8. Hoffmann M, Tsinalis D, Vernazza P, et al. Assessment of an Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in haemodialysis patient. *Swiss Med Wkly* 2010;140:286-292.
9. Harstad I, Winje BA, Haldal E, et al. Predictive values of QuantiFERON-TB Gold testing in screening for tuberculosis disease in asylum seekers. *Int J Tuberc Lung Dis* 2010;14:1209-1211.
10. Mori T. Usefulness of interferon-gamma release assays for diagnosing TB infection and problems with these assays. *J Infect Chemother* 2009;15:143-155.
11. Stefan DC, Dippenaar A, Detjen AK, et al. Interferon-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children with cancer. *Int J Tuberc Lung Dis* 2010;14:689-694.
12. Stavri HR, Murgoci G, Ulea I, et al. Prospective Comparison of Two Brands of Tuberculin Skin Tests and Quantiferon-TB Gold in-tube Assay Performances for Tuberculosis Infection in Hospitalized Children. *Maedica (Buchar)* 2010;5:271-276.
13. Schablon A, Harling M, Diel R, et al. Risk of latent TB infection in individuals employed in the healthcare sector in Germany: a multicentre prevalence study. *BMC Infect Dis* 2010;10:107.

附錄

台中榮民總醫院人體試驗計畫受試者同意書													
<p>敬啟者：</p> <p>為增進醫學新知及提高醫療技術，進而服務社會，承蒙您自願接受(法定代理人同意)為本試驗計畫之主要受試對象，為能使您完全瞭解本計畫施行人體試驗部分主要內容及方法，敬請詳閱以下各項資料。倘若您對本試驗進行的方法及步驟仍有疑問，本計畫有關人員願意提供進一步解釋，以期您能充分瞭解。</p>													
<p>計畫名稱：</p> <p>長期照護機構潛隱性結核病患治療與後續追蹤研究</p> <p>Treatment latent tuberculosis patient and following up in long term care unit</p>													
<p>執行計畫單位：台中榮民總醫院胸腔內科</p> <table><tbody><tr><td>計畫主持人：沈光漢</td><td>職稱：主治醫師</td><td>電話：04-23592525 ext 3217</td></tr><tr><td>協同主持人：黃偉彰</td><td>職稱：主治醫師</td><td>電話：04-23592525 ext 3216</td></tr><tr><td>協同主持人：黃丞正</td><td>職稱：主治醫師</td><td>電話：04-23592525 ext 4054</td></tr><tr><td>24小時緊急聯絡人：洪喬</td><td>職稱：研究助理</td><td>電話：0989-046585</td></tr></tbody></table>		計畫主持人：沈光漢	職稱：主治醫師	電話：04-23592525 ext 3217	協同主持人：黃偉彰	職稱：主治醫師	電話：04-23592525 ext 3216	協同主持人：黃丞正	職稱：主治醫師	電話：04-23592525 ext 4054	24小時緊急聯絡人：洪喬	職稱：研究助理	電話：0989-046585
計畫主持人：沈光漢	職稱：主治醫師	電話：04-23592525 ext 3217											
協同主持人：黃偉彰	職稱：主治醫師	電話：04-23592525 ext 3216											
協同主持人：黃丞正	職稱：主治醫師	電話：04-23592525 ext 4054											
24小時緊急聯絡人：洪喬	職稱：研究助理	電話：0989-046585											
<p>受試者姓名：</p> <p>性別：<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女 出生日期：</p> <p>病歷號碼：</p> <p>通訊地址：</p> <p>聯絡電話：</p>													
<p>法定代理人/有同意權人姓名：</p> <p>與受試者關係：</p> <p>性別：<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女 出生日期：</p> <p>身分證字號：</p> <p>通訊地址：</p> <p>聯絡電話：</p> <p>(醫療法第七十九條規定：受試者為無行為能力或限制行為能力人，應得其法定代理人之同意)</p>													
<p>本同意書以下列方式向受試者說明敘述理由：<input type="checkbox"/> 口述 <input type="checkbox"/> 筆述</p>													
<p>一、試驗目的：</p> <p><u>目前台灣在結核病的防治，以往都只注重在已發病病人的治療，但是等到發病再進行治療的話，治療過程十分地困難而且辛苦，因此國際間研究學者都希望能夠及早發現潛伏未發病的肺結核病患，進行預防治療，避免肺結核的發病，達到提早發現，提早治療的目標。</u></p>													

在台灣結核病發病的危險年齡，大部分為 65 歲以上的老人家，這些老人家除了在家裡由家人或看護照顧外，就是在長期照護機構接受專業的照護；但住在長期照護機構裡，常有交叉感染的可能性，必須加以防範。因此我們在這個試驗中，會先對你（妳）進行克肺癆結核菌感染診斷試管組（QFT）並且搭配結核菌素皮膚試驗（TST.），判斷您是否為潛伏性肺結核患者，診斷試管試驗的結果為陽性者，就給與一線用藥敵癆剋星片（INH）的治療，每天服用並且由長期照護中心或關懷員看著服藥，治療時間為九個月，才足以消滅結核病菌及防止頑固的結核病菌蔓延，也可避免在長期照護機構中有肺結核患者的發病。若沒有接受藥物治療者仍可加入本次試驗，可以作為沒有吃藥治療的對照組。

二、試驗之主要納入與排除條件：

納入條件：1) 受試者為追蹤長期照護機構中接觸到結核病陽性個案的醫護人員、住民及其家屬，醫護人員與被照護者人數上比率上的分配為 1:4~1:10，納入 150 位受試者人數。

排除條件：1) 排除愛滋病患 2) 腫瘤病人接受化學治療期間 3) 自體免疫疾病或器官移植接受免疫抑制劑病患 4) 針對isoniazid過敏或嚴重副作用(發燒、寒顫、關節炎)的病患 5) 患有慢性肝硬化的病患。

三、受試者之招募：

由計畫主持人先篩選合適的長期照護機構，進一步的與長期照護機構醫護人員聯絡、及說明計畫試驗目的針對長期照顧機構中的住民與醫護人員為招募對象，主要由計畫之主持人及協同人員進行招募，請長照機構的醫護人員協助，附上人體試驗同意書與長期照護的住民及家屬說明，預計為 150 人參加篩檢。

四、試驗方法及相關檢驗：

- 所有對象皆接受胸部 X 光檢查。
- 配合長期照護機構的胸部 X 光巡檢，發掘疑似個案，疑似個案並進行驗痰檢查包括抹片及培養，確診個案必須接受診斷時三套痰檢查，第三個月及第五個月及停藥前也必須有三套痰液的檢查，為長期照護機構之例行檢查。
- 克肺癆結核菌感染診斷試管組（QFT）：克肺癆結核菌感染診斷試管組試驗的目的主要是用來診斷潛伏性肺結核病患及輔助肺結核的診斷，並且也可以在一些免疫抑制的病患中偵測出潛伏的結核病患，較能在臨床發病前更早發現結核病患。此試驗為加入此試驗增加之檢查，抽血數量為 5~8 毫升。
- 進行結核菌素皮膚試驗（TST.）：採結核菌素皮膚試驗 RT23 2tu/0.1ml Mantoux test，皮內注射後，48-72 小時判讀硬結橫徑大小記錄之，如反應不呈圓型，則

記錄硬結長徑及短徑。由受過訓的卡介苗工作人員負責測試及判讀，結核菌素皮膚試驗 (TST.) 由疾病管制局免費供應。已加入試驗計畫之機構的工作人員以及被照顧者皆接受結核菌素皮膚試驗 (TST.)，為加入此試驗增加之檢查。結核菌素皮膚試驗 (TST.) 在採血後 2 週內進行。

- 克肺癆結核菌感染診斷試管組試驗結果陽性者，在服藥前、服藥後三個禮拜、三個月、六個月以及九個月最後完治之後，將進行肝功能的檢查。亦為加入此試驗增加之檢查。抽血數量為 5~8 毫升。

五、參加本試驗可能產生之副作用、併發症之發生率及其處理方法：

副作用可能發生在於兩階段式結核菌素皮膚試驗中，有 2-3% 可能引起水泡及皮膚反應，應保持傷口乾燥，或經由醫師診視即可。至於克肺癆結核菌感染診斷試管組 (QFT) 試驗，由於為抽血進行體外檢查，並不會有任何危險。服用 INH 藥物治療時，有 2% 的可能會影響肝部，但僅有千分之一的受試者會因肝功能異常而需停藥。肝問題可能相關的症狀包括：發燒、疲倦、虛弱、食慾不振、皮膚或眼睛發黃、噁心/嘔吐、深茶色尿液、發疹/發癢、淺色糞便。處理方法在一開始服用藥物兩週內請長期照護機構醫護人員觀察病患服用藥物後的任何反應。若真的有肝功能不適的情況下，請醫師診視評估是否繼續用藥。

六、除本試驗使用之方法外，其他可能之替代 INH 藥物治療方法及說明：

亦可服用 Rifampicin 藥物四個月的治療。但潛伏性結核病患在台灣仍以服用 INH 9 個月的治療為疾病管制局認定的標準治療處方。

七、預期試驗效果及對受試者可能的利益：

以兩階段式的結核菌素皮膚試驗 (tuberculin skin test) 或克肺癆結核菌感染診斷試管組 (QFT) 試驗為基礎，找出長期照護機構中潛伏性的肺結核患者，給予 INH 用藥治療九個月後，希望能夠避免潛隱性肺結核的發病，進一步避免長照機構中肺結核的交叉傳染。更希望建立以長照機構為單位之肺結核防治體系，建立長期追蹤結核病的指標。

八、受試者在參加研究期間之禁忌、限制與應配合之事項：

你(妳)在參加研究期間，切勿於服用 INH 藥物期間飲酒，因為酒精與 INH 合用，可能影響肝臟功能，並且減損 INH 之效果。

九、機密性：

經由簽署受試者同意書，你(妳)即同意其原始醫療記錄可直接接受監測者、稽核者、人體試驗委員會及主管機關檢閱，以確保臨床試驗過程與數據符合相關法律及法規要求，並承諾絕不違反你(妳)身份之機密性。試驗所得資料可能將發表於學術性雜誌，但你(妳)姓名將不會公布，同時你(妳)的隱私將給予絕對的保密。

十、所有參與試驗之機構名稱與試驗經費來源：

疾病管制局第三分局、台灣中南部各級醫院、衛生所及迦南精神護理之家、凱華護理之家、嘉義榮民醫院、宜信護理之家、慈恩老人養護中心、洪宗鄰醫院附設護理之家，經

費來源為疾病管制局。
<p>十一、對受試者之補償： <u>你（妳）</u>將可得到免費的皮膚試驗檢查及 QFT 的試驗，並無其他費用之補貼。</p>
<p>十二、對受試者之損害賠償與保險：</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 如依本研究所訂臨床試驗計劃，因而發生不良反應或造成損害，本醫院願意提供專業醫療照顧及醫療諮詢。您不必負擔治療不良反應或損害之必要醫療費用。 ■ 除前項賠償及醫療照顧外，本研究不提供其他形式之賠償。若<u>你（妳）</u>不願意接受這樣的風險，請勿參加試驗。 ■ <u>你（妳）</u>不會因為簽署本同意書，而喪失在法律上的任何權利。
<p>十三、受試者權利：</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 醫院將盡力維護<u>你（妳）</u>在試驗施行期間之權益，並善盡醫療上必要之注意。 ■ 本試驗已經得到醫院人體試驗委員會審查通過，該委員會的審查重點即是對<u>你（妳）</u>是否有適當的保護。 ■ 試驗過程中，與<u>你（妳）</u>的健康或是疾病有關，可能影響<u>你（妳）</u>繼續接受臨床試驗意願的任何重大發現，都將即時提供給<u>你（妳）</u>。 ■ 如果<u>你（妳）</u>在試驗施行期間退出試驗，將不影響醫病關係或任何醫療上的正當權益。必要時<u>你（妳）</u>仍得要求醫院提供與<u>你（妳）</u>已接受之試驗相關之必要追蹤檢查。如果退出試驗，請與主持人聯絡。 ■ 參加本試驗不需繳交任何額外費用。 ■ 如果<u>你（妳）</u>在試驗過程中對試驗工作性質產生疑問，對身為患者之權利有意見或懷疑因參與研究而受害時，您可與本院之人體試驗委員會聯絡請求諮詢。其聯絡電話為：04-23592525轉4006，傳真號碼為：04-23592525轉4408，電子信箱為：irbtc@vghtc.gov.tw。 ■ 為進行試驗工作，<u>你（妳）</u>必須接受 <u>沈光漢</u> 醫師的照顧。如果<u>你（妳）</u>現在或於試驗期間有任何問題或狀況，請不必客氣，可與在台中榮民總醫院<u>內科</u>部<u>胸腔內科</u>的<u>沈光漢</u>醫師聯絡。〈24小時聯繫電話：0989-046585〉。本同意書一式2份，醫師已將同意書副本交給你〈妳〉，並已完整說明本研究之性質與目的。<u>沈光漢</u>醫師已回答您有關藥品與研究的問題。
<p>十四、試驗之退出與中止： <u>你（妳）</u>可自由決定是否參加本試驗；試驗過程中也可隨時撤銷同意，退出試驗，不需任何理由，且不會引起任何不愉快或影響其日後醫師對您的醫療照顧。試驗主持人亦可能於必要時中止該試驗之進行。</p>
<p>十六、簽章 經本試驗計畫主持人或其代理人詳細向本人解釋有關本研究計畫中上述研究方法的性質與目的，及可能產生的危險與利益。本人已明瞭，且有關本試驗之疑問，亦得到詳細解答。本人係在完全自主，未被詐欺、脅迫或利誘之情形下，同意參加本試驗，並知悉在試</p>

驗期間本人有權隨時無條件退出試驗，試驗內容如有變更，亦將先取得本人同意。

■ 受試者簽名：_____ 日期：_____年_____月_____日

■ 法定代理人/有同意權人 (如適用)：_____

簽名：_____ 日期：_____年_____月_____日

關係：

■ 見證人簽名：_____ 日期：_____年_____月_____日

身分證字號：_____

聯絡電話：_____

通訊地址：_____

說明：如受試者或法定代理人不識字或無法閱讀時，需見證人的簽名及受試者或法定代理人的簽名或指印。

■ 主持人聲明：

我保證我本人或研究團隊中的一位成員 (已獲授權進行本步驟)，已經對上述人士解釋過本試驗，包括試驗目的、程序及參加本試驗可能的相關危險性與利益，以及目前可行的替代治療方式，所有被提出的疑問，均已獲得滿意的答覆。

計畫主持人/協同主持人/簽名：_____ 日期：_____年_____月_____日

說明人簽名：_____ 日期：_____年_____月_____日

**分項計畫 8： 肺癌病人使用抗癌藥物治療前篩檢潛伏性結核感
染之診斷價值評估**

摘要

研究目的 本研究計畫為前瞻性觀察性研究，主要目標為(1) 評估台灣肺癌患者同時合併潛伏結核感染的情形，(2) 肺癌患者同時合併潛伏結核感染的臨床危險因子，(3) 使用細胞毒性化學治療或其他治療對發生後續活動性肺結核的影響，(4) 評估使用丙型干擾素釋放測驗 (IGRA, interferon gamma releasing assay) 偵測肺癌患者潛伏感染之臨床價值，(5) 探討肺癌患者在接受治療前進行潛伏結核感染偵測與潛伏結核感染治療的必要性。本研究也將一併分析肺癌患者潛伏結核感染盛行率，發生活動性肺結核的臨床危險因子及免疫反應之特色。

研究方法 本計畫自2011年1月至2011年12月間，收入台北榮民總醫院、台北萬芳醫院、中山醫學大學附設醫院、高雄醫學大學附設醫院等三家醫學中之新診斷肺癌患者，使用丙型干擾素釋放測驗 (IGRA, interferon gamma releasing assay) 檢測病人在治療前之潛伏結核感染情形，並追蹤病人在接受治療後活動性結核病的發病情形。

結果 本研究目前已收案病人人數79人，有潛伏結核感染檢測結果的病人為69人，其中潛伏結核感染陽性的病人24位 (34.8%)，潛伏結核感染陰性的病人35位 (50.7%)，另有10位 (14.5%) 為無法判讀的結果。與潛伏結核感染陰性的病人相比，潛伏結核感染陽性的病人年紀較大 (77.9 ± 7.2 vs. 70.6 ± 12.5 years old, $p=0.013$)，較高比例為抽煙者 (70.8% vs. 42.9%, $p=0.034$)。此外，潛伏結核感染陽性的病人也有較高的比例為男性 (70.8% vs. 62.9%)，較高比例有過去的結核病治療史 (12.5% vs. 5.7%)，較少的比例有卡介苗疤痕 (33.3% vs. 48.6%)。IGRA結果為無法判讀的病人與有有明確判讀結果的病人相比，有較高的比例合併糖尿病 (40% vs. 11.9%, $p=0.025$)，此外，男性的比例較高 (90% vs. 66.1%)，較易合併慢性阻塞性肺病 (30% vs. 13.6%)，但沒有呈現統計學上的差異，而其他如年齡、BMI值、performance status分數都是類似的。與潛伏結核感染陰性的病人相比，潛伏結核感染陽性的病人血中的Interleukin-2數值在TB antigen - Nil管與TB - antigen管都有明顯升高 (TB antigen - Nil: 197.8 ± 219.2 vs. -0.2 ± 4.3 IU/ml, $p<0.001$; TB - antigen: 212.3 ± 225.3 vs. 10.5 ± 4.3 IU/ml, $p<0.001$)，使用TB antigen - Nil管與TB - antigen管的interleukin-2數值來診斷潛伏結核感染的area under curve (AUC) 是0.945與0.993。

結論及建議事項

肺癌病人合併高齡與抽煙史是合併潛伏結核感染的高危險族群，應該在接受治療前進行潛伏結核感染檢測，並密切追蹤將來發生活動性結核病的可能性。

關鍵詞：肺癌、潛伏結核感染、IGRA、化學治療、活動性結核病

前言

到目前為止，我們已經擁有有效的抗結核藥物超過五十年，結核病仍是世界上最嚴重的感染症，根據統計，目前全球有將近三分之一的人口-約為20億人-曾有過肺結核的感染，而每年有超過八百萬人發病。[1] 而在台灣，雖然醫療水準與公共衛生持續的進步，台灣仍然是結核病的流行地區，每年約有一萬五千個結核病新通報個案，我們的研究更顯示治療中的死亡率約接近20%，[2] 代表結核病在台灣仍然是公共衛生與防疫最大的挑戰。過去五年，由於政府『十年減半』的目標與努力，加上都治計畫與接觸者檢查的落實，台灣肺結核的盛行率與發生率都在逐年穩定的下降，但隨著活動性結核個案的逐漸減少，潛伏結核感染的重要性也逐漸浮現，如何對於潛伏結核感染的有效偵測與治療，是我們進一步根治結核病的重要關鍵。

而在另一方面，癌症疾病是我們在感染性疾病之外的另一個挑戰。根據民國97年十大癌症統計資料，肺癌的發生率在所有癌症之中，在男性與女性都是第三位，在死亡率部份，在男性是第二位，在女性是第一位，但整體來說，肺癌的死亡率在所有的癌症中是排名第一位，將肺癌視為我國第一重要的癌症疾病可說是並不為過。絕大多數的肺癌患者在診斷的時候都已經有局部侵犯或是遠端轉移的情形，這樣的病人不論有無開刀治療的機會，都必須要使用具細胞毒性的化學治療藥物或是標靶藥物來作後續的治療，而在化學治療的過程中，由於骨髓抑制與細胞毒殺的毒性，病人的免疫功能會有下降的情形，加以惡性腫瘤本身就是屬於免疫功能低下的危險因子，因此在肺癌病人化學治療的過程中，續發性的細菌感染並不少見，[3, 4] 肺結核病的發生也時有所聞，[5] 進一步增加病人治療的困難度。尤其是肺癌患者無論胸部影像學表現，或是臨床症狀，如慢性咳嗽咳血等，都與活動性肺結核難以區分，更增加肺癌患者診斷活動性肺結核的困難度。近年來由於標靶藥物與化學藥物治療的進步，肺癌病人的存活率與存活時間獲得增加，肺癌病人本身又必須經常進出醫療機構的病房或門診，因此肺癌在我國結核病流行病學與結核病防治的角色更是值得我們更加的關注。

傳統診斷潛伏結核感染的方法主要是依賴皮下結核菌素測驗 (tuberculin skin test)，但使用結核菌素測驗的主要缺點是會受到卡介苗接種的干擾影響正確性，其他如宿主本身免疫反應的缺陷、非典型肺結核菌的因素與操作者的技術，都會影響判讀的結果。[6, 7, 8] 台灣從50年前即開始在新生兒常規進行卡介苗的接種，因此在台灣要以結核菌素測驗來進行潛伏結核感染的偵測，在準確度上有一定的限制。近年來在臨床上發展的新方法，是利用結核菌特異抗原在體外刺激淋巴球產生丙型干擾素 (interferon- γ)，再以定量的方式偵測丙型干擾素以判定有無潛伏性結核感染，臨床上已有多種根據此原理發展的商業組套，統稱為IGRA (interferon gamma releasing assay)。[9, 10] 這樣的方式最大的優點是不受卡介苗影響，同時由於操作簡易可以減少人為技術上的影響，得到結果的時間也較快，但相對的缺點是價格比結核菌素測驗昂貴。與結核菌素測驗相同的限制是無法區別潛伏結核感染與活動性結核的差異，此外受試者的免疫功能也會影響到判讀的準確性。[11, 12, 13] 儘管IGRA仍稱不上是個完美的偵測潛伏結核感染的方法，但近來的研究已顯示IGRA檢驗法在偵測潛伏結核感染的敏感性約為80~90%，特異性則超過90%。[14, 15] 而在像台灣這種廣泛推行卡介苗接種的地區，IGRA方法更是有其一定的優勢。

台灣目前仍是結核病的盛行區域，不論是一般民眾還是肺癌患者，都會有一定的比例是屬於潛伏結核感染的病患，由於癌症本身會影響到免疫功能，肺癌患者也可能接受後續

的具細胞毒性化學治療，因此患有潛伏結核感染的肺癌患者很可能是未來發病的高危險群，但究竟肺癌患者接受化學治療後活動性結核發病的情形如何，與潛伏結核感染是否相關，接受化學治療或是其他治療如標靶藥物治療是否會增加活動性結核的發病率，不論國內國外都缺乏相關的資料。若能以IGRA方法早期偵測潛伏結核感染，採取相關的治療措施，應可減少後續肺結核的發生率並改善肺癌患者的預後。本研究的目的是針對新診斷肺癌的患者使用IGRA方法進行潛伏結核感染的偵測，評估具有潛伏結核感染的患者在接受治療之後發生活動性結核病的機會與相關危險因子，並評估採行潛伏結核感染治療對減少後續活動性結核發生的效果。

材料與方法

研究為多年期前瞻性觀察性研究，計畫於2011年1月至2011年12月在台北榮民總醫院，中山醫學大學附設醫院與高雄醫學大學附設醫院共三家醫學中心進行收案，預計收入新診斷肺癌病人100位，實施方法說明如下：

今年度之工作目標為建立多中心之合作模式，在每家醫院成立丙型干擾素釋放檢測 (IGRA) 實驗室，並在各中心通過倫理委員會審查開始進行收案，收案之納入條件與排除條件如下：

納入條件

1. 新診斷之肺癌患者
2. Performance status 0~2分
3. 計畫未來將接受針對肺癌之化學藥物治療

排除條件

1. 小於18歲
2. 孕婦
3. 目前有活動性結核病正在治療中
4. 過去兩年內有曾有活動性結核病接受過治療
5. 目前有肺部以外之活動性惡性腫瘤正在接受化學治療
6. 過去一年內曾因活動性惡性腫瘤接受過化學治療
7. 人類免疫不全病毒感染患者
8. 曾接受器官移植目前正在接受免疫抑制藥物治療

收案患者的臨床資料由病歷取得，病人的胸部X光表現由各醫院的負責醫師判讀，所有收案的患者在參加研究前都將簽署受試者同意書。本研究預估有潛伏結核感染之患者在接受化學治療後兩年內發生活動性結核的可能性為10%，沒有潛伏結核感染之患者在接受化學治療後兩年內發生活動性結核的可能性為1%，預設type I error 5%(two tailed)且statistic power80%的條件下，在兩組病人比例為1:1的情況下總共需要收入199位病人以達到統計學上的意義。

收案的患者在接受化學治療之前，都將進行三套痰液抗酸性染色與結核菌培養檢查以排除活動性結核，並將接受結核菌素測驗 (PPD RT23, Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark) 及丙型干擾素釋放檢測 (IGRA)，結核菌素測驗採用Mantoux 方法進行，IGRA使用的試劑則為QuantiFERON-TB GOLD In-Tube (Cellestis Ltd., Victoria, Australia)，檢測方式說明如下

1. 自患者週邊靜脈抽取病患 3~5cc 全血，置入抗凝管
2. 分別抽取1 ml 全血，分裝到標示為Nil (不含任何抗原)，Antigen(含有ESAT6、CFP10、TB 7.7三種結核菌特定抗原)與Mitogen (以PHA 當 mitogen)等三隻試管。
3. 37°C下培養16至24小時。
4. 室溫下離心15分鐘後抽取三隻試管之上清液(血漿)。
5. 以ELISA方法檢測三隻試管 (Nil, Antigen, Mitogen) 之interferon- γ 濃度
6. 判讀結果
 - 若 Antigen管的 INF- γ 減去Nil管大於 0.35(IU/ml)則代表陽性，代表有潛伏性結核病或結核菌感染。
 - 若Antigen管的 INF- γ 減去陰性對照組小於 0.35(IU/ml)，且Mitogen管的INF- γ

>0.5(IU/ml), 則代表陰性, 代表無潛伏性結核病或結核菌感染。

- 若Mitogen管的INF- γ <0.5(IU/ml) 或Nil管的INF- γ >8.0(IU/ml), 則為無法判讀。病人接受化學治療前的血漿也將進行丙型肝炎干擾素以外之細胞激素測驗, 使用ELISA方法偵測IL-2與IP-10濃度。

所有收案之病人將從開始接受第一次化學治療後規則每三個月進行三套痰液抗酸性染色檢查(以Ziehl-Neelson 方法)及結核菌培養(使用固態培養基LJ medium或液態培養基MGIT method)檢查, 病人於追蹤期間發生之活動性結核的定義如下

1. 呼吸道檢體(包括痰液、肺泡沖洗液、肺部病理組織切片)結核菌培養陽性且鑑定為結核分枝桿菌, 或是
2. 肺部病理組織切片呈現典型肺結核變化(包括caseous necrosis, granulomatous inflammation, presence of acid-fast bacilli, multinuclear giant cell, epithelioid cell等)

所有培養陽性之菌株將同時進行spoligotyping基因型鑑定, 方法如下

1. 由檢體中分離約10 ng 之結核菌DNA, 經PCR 放大後, 與固定在融合膜上之43個DR spacer 探針進行雜交反應, 再與streptavidin peroxidase 作用, 最後以biotin偵測系統記錄序列之多樣性圖譜。

2. 聚合酶連鎖反應: 微量離心管內添加17 μ l 水, 依序加入各2.5 μ lDRa、DRb, 最後加入檢體菌液3 μ l, 再每管加入25 μ l 礦物油後蓋上蓋。

- (1) 子序列(sequence of primers): 59-CCAAGAGGGGACGGAAAC-39及59- GGTT TTG GGTCTGACGAC-39, biotinylated 標記在59 端。

- (2) 執行PCR 設定96 $^{\circ}$ C 3分鐘; 96 $^{\circ}$ C 1分鐘、55 $^{\circ}$ C 1分鐘、72 $^{\circ}$ C 30秒, 20cycles; 72 $^{\circ}$ C 5分鐘, 4 $^{\circ}$ C。

- (3) 核酸雜交試驗: 以微量吸管注入150 μ l 2 \times SSPE/0.1% SDS, 注入20 μ l PCR產物, 以PCR machine denatnre 加熱。將雜交膜以250 ml、60 $^{\circ}$ C之2 \times SSPE/0.1% SDS 清洗再置於Miniblotter。PCR 產物分別注入每條溝中, 置於60 $^{\circ}$ C烘箱雜交。再於60 $^{\circ}$ C雜交烘箱內以250ml 2 \times SSPE/0.5% SDS 溶液鐘清洗2 次。

- (4) 呈色及沖片: 雜交膜置於雜交管內。將10 μ l Streptavidin-HRP 加入10 ml 2 \times SSPE/0.5% SDS 溶液混合均勻後, 加入含雜交膜之雜交管中, 以雜交烘箱42 $^{\circ}$ C溫度反應45 分鐘。反應完後以42 $^{\circ}$ C 250 ml 2 \times SSPE/0.5% SDS 溶液清洗兩次。之後於以250 ml 2 \times SSPE 溶液清洗。倒乾清洗液後加入ECL反應試劑10 ml 震盪。再置於壓片夾內, 於暗房內壓片5 分鐘後, 進行沖片。

- (5) 雜交膜的保存: 沖片完畢將雜交膜置於玻璃皿內, 倒入80 $^{\circ}$ C 250mL 1% SDS震盪清洗。於室溫下以250mL 20mM EDTA 清洗15 分鐘後, 置入塑膠袋內, 並添加少許EDTA 後封口, 於4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。北京型結核菌: 在H37Rv 標準株的43個重覆性序列片段探針位置中, 僅出現靠近3' 端的九個位置者即為典型的北京型結核菌。

所有病人預計持續追蹤兩年, 以觀察其活動性肺結核的發病情形。

統計分析:

本研究在實驗期間, 預計收入100位病人, 將探討新診斷肺癌病人潛伏結核感染的現況, 接受化學治療後活動性結核病的發病情形, 潛伏結核感染陽性與陰性病人在後續結核菌發病比例之差異, 分析肺癌病人接受化學治療後發生續發之活動性結核之相關臨床危險

因子，以及比較不同基因型結核菌株與潛伏結核感染偵測結果之相關性。本研究將同時分析使用丙型干擾素以外之細胞激素測驗，包括IL-2與IP-10，對偵測潛伏結核感染與預測將來活動性結核發病的準確性。

結果

本研究預計自2011年1月至2011年12月間，台北榮民總醫院，中山醫學大學附設醫院與高雄醫學大學附設醫院針對新診斷肺癌患者進行收案，計畫收案100位病人，進行丙型干擾素釋放測驗(Interferon Gamma Releasing Assay, IGRA)對病人進行潛伏結核感染檢測，並根據潛伏結核感染情形建立臨床病人資料庫。

本前瞻性觀察性研究，主要目標為(1) 評估台灣肺癌患者同時合併潛伏結核感染的情形，(2) 肺癌患者同時合併潛伏結核感染的臨床危險因子，(3) 使用細胞毒性化學治療或其他治療對發生後續活動性肺結核的影響，(4) 評估使用丙型干擾素釋放測驗 (IGRA, interferon gamma releasing assay) 偵測肺癌患者潛伏感染之臨床價值，(5) 探討肺癌患者在接受治療前進行潛伏結核感染偵測與潛伏結核感染治療的必要性。本研究之成果更可提供衛生署對特殊危險族群制定結核病防治政策及醫界診斷與治療之參考，進而確保民眾健康，提昇國家生產力。

1. 新肺癌病人之臨床特色

本研究今年在台北榮民總醫院，中山醫學大學附設醫院與高雄醫學大學附設醫院針對新診斷肺癌患者進行收案，目前已收案病人為79人，有完整潛伏結核感染檢測結果者有69人，其中男性48人(69.6%)，女性21人(30.4%)，平均年齡為71.7±11.3歲(40~93歲)，平均BMI為22.5±3.5(14~29.1)，其中5人(7.2%)有結核病治療史，30人(44.9%)有BCG疤痕，37人(55.1%)有抽煙史。Performance status 1分有58人(85.5%)，2分有11人(14.5%)，沒有病人有新近的活動性結核病接觸史。在過去疾病史方面，有糖尿病患者有11人(15.9%)，有慢性阻塞性肺病者有11人(15.9%)，有慢性腎衰竭者有1位(%)，沒有病人有肝硬化或HIV，在自體免疫疾病部份，有一人有類風濕性關節炎(2%)，有一人有紅斑性狼瘡(2%)，有25位病人完全沒有過去的疾病史，但這可能是因為本研究收案條件侷限於performance status 0~2分的病人，所以疾病嚴重度較高的病人較不容易收入本研究。

在腫瘤類型部份，adenocarcinoma有48人(68.1%)，squamous cell carcinoma有7人(11.6%)，small cell carcinoma有11人(15.9%)，其他有3人(4.3%)腫瘤類型為non-small cell carcinoma，這樣的分佈情形與目前台灣的腫瘤細胞類型是類似的，亦即肺腺癌是目前最常見的肺癌類型。

在腫瘤分期部份，stage I有5人(7.2%)，stage II有3人(4.3%)，stage III有11人(15.9%)，stage IV有50人(72.5%)，顯示有將近九成的病人是晚期的病人，這是因為本研究的收案條件限制為將來計畫進行化學藥物治療的病人，所以較會收案晚期的病人，這個部份將來可以考慮放寬收案條件，以收入較早期病人，可以增加接受治療後觀察的時間。

所有的病人中有48位病人接受三套痰液檢查，其中一位痰液抗酸性染色陽性，但之後PCR檢測為陰性，且培養結果為非典型性結核菌(non-tuberculosis mycobacterium)，另外有8位病人培養結果為非典型性結核菌但痰液抹片陰性，沒有病人痰液培養為結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)，由於收案人數相對較少，追蹤時間也較短，所以目前沒有發現同時合併肺結核與肺癌的病人，另外一方面我們也發現在所有有痰檢驗的病人中有16.7%的病人培養長出非典型性結核菌，顯示一個能夠有效鑑

定結核菌與非典性結核菌的高準確度實驗室的重要性。

2. 肺癌病人之潛伏結核盛行率情形

在 IGRA 檢測部份，在所有 50 位病人中，IGRA 檢測陽性-即為潛伏結核感染陽性-的病人有 24 人(34.8%)，IGRA 檢測陰性-即為潛伏結核感染陰性-的病人有 35 人(50.7%)，但有另外 10 位病人(14.8%)為無法判讀的結果(indeterminate)。若扣除無法判讀的 10 人，在可判讀的肺癌病人中，潛伏結核感染樣陽性的人數高達 40.7%。由於這些病人都是惡性腫瘤的病患，大多數都是高齡者，將來又有可能接受具細胞毒性的化學藥物治療，都可能是造成未來發生活動性肺結核的危險因子，非常的值得我們注意。

3. 潛伏結核感染陽性之肺癌病人之臨床特色比較

進一步比較潛伏結核感染陽性與陰性的肺癌病人，我們發現潛伏結核感染陽性的病人年紀明顯較大(75.9 ± 8.1 vs. 68.3 ± 13.6 years old, $p=0.013$)，抽煙者的比例也顯著較高(70.8% vs. 42.9%, $p=0.034$)。在其他的臨床特色方面，也有趨勢顯示潛伏結核感染陽性病人中男性的比例較高(70.8% vs. 62.9%)，較多的病人過去有結核病治療史(12.5% vs. 5.7%)，相的，潛伏結核感染陰性的病人則有較高的比例有注射過卡介苗(48.6% vs. 33.3%)。但因為個案的數目有限，所以這些因子都沒有呈現統計學上顯著的差異。在合併症部份，兩者在糖尿病、慢性阻塞性肺病與腎功能不良的比例都是類似的。在腫瘤的特性上，潛伏結核感染陽性的病人有較高比例為 squamous cell carcinoma (12.5% vs. 5.7%)與 small cell carcinoma (20.8% vs. 11.4%)，較少病人為 adenocarcinoma (62.5% vs. 80%)，在腫瘤的期別上，潛伏結核感染陽性的病人有較高的比例為第四期(79.2% vs. 65.7%)。

從另一個角度來看，我們可以發現在 5 位過去有結核病治療史的病人中，2 位為 IGRA 陰性 3 位為 IGRA 陽性，在 30 位有接受過 BCG 疫苗注射的病人中，17 位為 IGRA 陰性 8 位為 IGRA 陽性，另有 5 位為無法判讀，顯示過去結核病治療史與 BCG 疫苗注射並不太會影響 IGRA 檢測的結果。

4. 丙型肝炎干擾素檢測結果“不確定”之病人特色

另一個值得注意的部份是本研究目前收入的肺癌病人中，有 10 位(20%)為無法判讀的情形(indeterminate)，比例不低，若比較有明確判讀結果與無法判讀的個案差異，顯示屬於 IGRA 無法判讀的族群，比起有明確判讀結果的病人，合併糖尿病的比例顯著較高(40% vs. 11.9%)，此外男性(90% vs. 66.1%)與慢性阻塞性肺病(30% vs. 13.6%)的比例也有較高的趨勢，但沒有統計學上的差異，而其他如年齡、BMI 值、performance status 分數都沒有太大的差異。顯示要從臨床上找出接受 IGRA 檢測容易出現 indeterminate 結果的病人並非容易。

5. 潛伏結核感染陽性與陰性病人之 IL-2 細胞激素特性

若從檢驗的數值來看，TB antigen - Nil 管的 Interferon-gamma 數值在潛伏結核感染陽性與陰性的病人分別為 2.48 ± 2.77 IU/ml 與 0.04 ± 0.13 IU/ml ($p<0.001$)，而 TB - antigen 管的 Interferon-gamma 數值在潛伏結核感染陽性與陰性的病人則分別為

2.57 ± 2.82 IU/ml 與 0.14 ± 0.12 IU/ml ($p < 0.001$) (圖一)，而且兩組病人的數值並沒有明顯重疊的情形(圖二)，顯示不論是 TB - antigen 管還是 TB antigen - Nil 管的 Interferon-gamma 數值，其實都可以幫助我們區別潛伏結核感染陽性與陰性的病人。

我們同時將所收案的潛伏結核感染陽性與陰性病人的檢體進行第二型介白素 (Interleukin-2, IL-2) 的檢測，我們發現若以丙型干擾素釋放測驗作為黃金標準來檢視使用 ESAT-6、CFP-10 與 TB7.7 等抗原刺激後所釋放的 IL-2 來診斷潛伏結核感染一樣也有很不錯的鑑別力。從檢驗的數值來看，TB antigen - Nil 管的 Interleukin-2 數值在潛伏結核感染陽性與陰性的病人分別為 197.8 ± 219.2 IU/ml 與 -0.2 ± 4.3 IU/ml ($p < 0.001$)，而 TB - antigen 管的 Interleukin-2 數值在潛伏結核感染陽性與陰性的病人則分別為 212.3 ± 225.3 IU/ml 與 10.5 ± 4.3 IU/ml ($p < 0.001$) (圖三)，兩組病人的數值同樣沒有明顯重疊的情形(圖四)。

若是以 ROC curve 來檢視使用 interleukin-2 來診斷潛伏結核感染陽性的病人，TB antigen - Nil 管的 interleukin-2 數值的 area under curve (AUC) 是 0.945，若是使用 TB - antigen 管的 interleukin-2 數值的 area under curve (AUC) 是 0.993(圖五)，證實 TB antigen specific 或是 unspecific 的 interleukin-2 也是診斷潛伏結核感染病人的很好的工具。

6. 肺癌病人之活動性肺結核發病情形

本研究今年由於收案開始時間較晚，因此目前追蹤時間最長的病人也僅約 4 個月左右，目前所有追蹤的病人中有兩人死亡(4%)，存活的病人中尚無人發生活動性結核病的情形，因此關於 IGRA 檢測陽性對後續活動性結核病發病的預測價值仍有待長期的追蹤與評估。

討論

本研究顯示在收案的新診斷肺癌病人中，有超過三成的病人屬於潛伏結核感染陽性，若排除檢驗結果為”不確定”的個案，更有四成的病人有潛伏結核感染的情形，比例可說是相當的高。目前對於肺癌病人潛伏結核感染情形的研究不論國內外都相當有限，在義大利的Bordignon等人報告在60位肺腫瘤病人中(lung neoplasm)，合併潛伏結核感染的比例是29.6%[18]，與本研究目前的結果可說是相當的。由於這些病人都是活動性惡性腫瘤的病患，大多數都是高齡者，平均年齡70歲，易合併潛在疾病如糖尿病、腎衰竭等疾病，將來又有可能接受具細胞毒性的化學藥物治療，可說是結合了許多可能造成活動性結核病發病的危險因子，因此這些病人都是發生活動性肺結核的高危險族群，更顯示在這些病人中挑選出本身為潛伏結核感染病人的重要性。

本研究所收案的肺癌病人具有高齡、多為末期，多合併症的特性，這與我們收案條件選擇計畫進行化學治療的病人有關，所以較會收案晚期的病人，這個部份將來可以考慮放寬收案條件，以收入較早期病人，可以增加接受治療後觀察的時間。

分析潛伏結核感染陽性與陰性的肺癌病人，我們可以發現高齡與抽煙史是重要的危險因子，還有一些因素是可能的危險因子，包括男性與慢性阻塞性肺病，雖然無法呈現統計學上有意義的差距，但兩者間出現有差異的趨勢，本研究將來若能繼續進行，增加收案的人數，應可以找出更多統計學上有意義的危險因子，幫助我們篩選何種的肺癌病人更應接受潛伏結核感染的檢測。

我們發現潛伏結核感染陽性的病人的平均年齡較潛伏結核感染陰性的病人為高，這樣的結果並不太令人意外，可能的原因是高齡者的免疫功能較下降，因此在接觸到飛沫中的結核菌時較不易利用innate immunity對結核菌進行清除，因而進入潛伏結核感染的狀態，這與高齡者發生肺結核的機會遠大於青年人是一致的。此外，抽煙也是統計學上顯著的危險因子，過去其他的研究也顯示抽煙是活動性結核病的危險因子，可能與抽煙降低呼吸道的免疫功能有關。其他可能的危險因子還包括男性與慢性阻塞性肺病，這與活動性肺結核好發在男性與抽煙者也都是類似的，這顯示，具有這些危險因子的族群之所以會有較高的活動性結核病的比例有一部分的原因是因為這些族群從一開始就有較高的比例得到潛伏結核感染，但這些病人在得到潛伏結核感染之後是否也比較容易發病，則有待更進一步的研究。另外一個有趣的現象是我們發現有接受過BCG疫苗注射的病人得到潛伏結核感染的比例較低，這可能是因為潛伏結核感染陰性的病人較年輕，所以有較多的機會接受過BCG的注射，但也確實可能是因為BCG疫苗有一定的保護效果避免得到潛伏結核感染。

在腫瘤的特性方面，本研究發現潛伏結核感染陽性的病人有較多的 squamous cell carcinoma與 small cell carcinoma，這可能是與抽煙的病人易得到潛伏結核感染有關，因此這群病人得到squamous cell carcinoma與 small cell carcinoma的機會也較高。另外一方面，我們也發現潛伏結核感染陽性的病人肺癌第四期的比例較高，這也可能是與潛伏結核感染陽性的病人年齡較大有關，但究竟潛伏結核感染本身所引發的免疫反應是否與肺癌的病態發生學有關也是個不能排除的因素，值得我們進一步的深究。

過去傳統偵測潛伏結核感染的方法是結核菌素測驗(Tuberculin skin test, TST)，而結核菌素測驗眾所周知的缺點除了耗費人力，需48~72小時候判讀，需特殊訓練外，最重要限制是會受到BCG疫苗注射與非典型結核菌(NTM)的影響，本研究顯示接受BCG疫苗注射的病人潛伏結核感染陽性的比例反而較低，在NTM部份，本研究有8位病人在痰液檢查驗出

NTM的colonization，在8位病人中有2位是潛伏結核感染陽性，4位是潛伏結核感染陰性，2位則是無法判讀的結果，顯示BCG疫苗與NTM colonization都不會增加IGRA檢測出現陽性的機會，這也凸顯了IGRA相對於TST的優勢，尤其在一個有廣泛接受BCG疫苗注射的社會與NTM colonization比例高的地區，更是需要像IGRA這樣不受干擾的檢驗項目來幫助我們找出真正潛伏結核感染陽性的病人。

本研究收案的病人中有10 (14.5%)位的IGRA檢測結果為無法判讀 (indeterminate)，這樣的比例比本院過去的經驗 (小於10%) 要高，這可能與高齡與惡性腫瘤所導致的淋巴球功能下降有關，顯示惡性腫瘤病人確實為免疫功能不良之族群。根據過去的文獻，韓國的Kim等人報告在211位免疫功能不全的病人，出現無法判讀結果的比例為21.4%，在117位免疫功能正常的病人中，出現無法判讀結果的比例為9.6% [19]，另外一篇韓國的研究顯示，在使用免疫抑制藥物的66位病人中，出現無法判讀結果的比例為10.7% [20]，印度的Syed等人的報告則顯示在HIV感染的105位病人中，出現無法判讀結果的比例為17% [21]，奧地利的Papay等人則報告在inflammatory bowel disease的190位病人中，出現indeterminate的比例為13.7%[22]。與此相比，本研究出現無法判讀結果的比例應未過高。

若與有明確判讀結果的病人相比，IGRA檢測結果為無法判讀的病人有顯著較高的比例合併糖尿病，是否因為高血糖影響淋巴球的功能，有帶進一步的研究。此外男性的比例較高(90% vs. 66.1%)，且較易合併慢性阻塞性肺病(30% vs. 13.6%)，但沒有統計學上的意義。而其他如年齡、BMI值、performance status分數則兩組病人是類似的。顯示要從這些肺癌的病人中找出接受IGRA檢測容易出現indeterminate結果的病人並不容易，而這個族群的病人也可能成為我們將來要進行潛伏結核感染篩檢的盲點，但從另外一個角度來說，這群病人若是使用結核菌素測驗(TST)很可能會讓我們誤判病人為潛伏結核感染陰性，但事實上病人淋巴球的功能不佳，將來不論是潛伏結核感染或是活動性結核病的機會都可能會比淋巴球功能正長的病人來得高。因此這群病人與潛伏結核感染陽性的病人應該是同樣需要密切的追蹤發病的情形，我們也需要發展其他的檢驗可以克服目前IGRA檢測的限制。

我們也同時將病人的檢體進行interleukin-2的檢驗，以評估使用IL-2來檢測潛伏結核感染的可行性，我們發現若以IGRA作為潛伏結核感染有無的標準，不論是使用TB Antigen管或是使用TB Ag-Nil的檢驗數值，都與IGRA的檢測大致上是相符的，ROC curve的AUC分別是0.993與0.945，潛伏結核感染陽性或陰性病人的檢驗數值也沒有明顯的重疊，顯示IL-2是另外一個可以有機會取代Interferon-gamma的細胞激素，值得進一步的研究分析，尤其是在IGRA檢測為indeterminate的病人，是否可以利用IL-2來對病人進行更正確的評估也是我們未來努力的方向。

研究目標(KPI)完成度檢討

本研究今年原本預計應收案100位病人，但到目前為止的收案數僅為79人，預計實驗結束日前可能無法達到原訂研究目標，針對收案進度落後原因，進行下列檢討。

1. 收案醫院較原先預期減少

本研究案原預計在台北榮民總醫院、台中中山醫學大學附設醫院、高雄醫學大學附設醫院等三家醫院進行收案，但在高雄醫學大學附設醫院送審人體試驗委員會時，審查委員認為所有驗痰的費用皆應由研究經費編列，經與審查委員多次書面溝通

後，委員仍無法接受不予通過，因此實際收案醫院僅有台北榮民總醫院、台中中山醫學大學附設醫院兩家，造成收案進度落後。若未來本計畫能繼續進行，將編列痰液檢驗相關預算，我們也將增加更多的收案醫院以提昇收案進度。

2. 人體試驗委員會審查時間長，本研究今年收案開始時間落後

本研究案收案時間原本為1月1日至12月31日，但人體試驗委員會實際審查時間在台北榮民總醫院與台中中山醫學大學附設醫院皆約2~3個月，台北榮總通過時間為5月15日，台中中山醫院為6月12日，因此實際收案時間迄今約6個月，導致收案進度落後，若本計畫明年持續進行，至少台北榮民總醫院與台中中山醫學大學附設醫院的人體試驗證明可繼續展延，會有完整的收案時間，可確保達到收案目標。

3. 收案條件較嚴格

本研究收案條件為新診斷肺癌病患，performance status 為0~2分，且預備接受化學藥物治療的患者。早期診斷，performance status佳，可開刀之病人無法收案，適逢今年年中健保局放寬標靶藥物治療健保給付條件，因此有相當比例病人第一線使用標靶藥物治療，使得第一線使用化學藥物治療的患者減少。此外，參與研究的醫院為醫學中心，原本就有許多化學治療藥物的臨床新藥研究，而許多新藥臨床試驗皆要求病人不得同時加入其他臨床研究，也減少可收案之病人數。為增加病人追蹤時間，我們只收入performance status 0~2分的病人，也增加收案難度。由於以上原因，都使得適合收案的病人數不如預期，使收案進度下降，若本計畫明年持續進行，我們將修正收案條件，收入包含開刀或使用標靶藥物治療病人，以增加收案數目，並與使用化學治療藥物之病人族群作比較。

結論與建議

本研究今年的研究重要發現如下

1. 新診斷肺癌病人中潛伏結核感染的比例約為35%，但若僅計算有明確IGRA結果的病人，則潛伏結核感染的比例約為41%。IGRA檢測結果呈現indeterminate的比例為14.5%。
2. 與潛伏結核感染陰性的病人相比，潛伏結核感染陽性的病人的臨床危險因子包括高齡與抽煙史，其他可能的危險因子還包括男性、過去結核病治療史與未接受卡介苗注射。
3. 在肺癌的特性部份，潛伏結核感染陽性的病人有較高的比例為鱗狀上皮細胞癌與小細胞肺癌，可能與抽煙史有關，第四期的比例也較高。
4. 使用interleukin-2來偵測潛伏結核感染的效果與IGRA結果類似，也有很好的鑑別力。而interleukin-2對於IGRA結果為indeterminate病人的診斷價值值得進一步評估。

肺癌病人具有高齡、多合併疾病、同時可能接受具細胞毒性化學治療藥物的臨床因子，是可能發生活動性結核病的高危險族群，我們的研究顯示台灣新診斷肺癌病人中合併潛伏結核感染的比例接近35~40%，相當值得我們重視，我們的研究顯示高齡、男性、抽煙、過去結核史可能是這些肺癌病人同時合併潛伏結核感染的危險因子，彼此間的相關性如何，是否為獨立危險因子，都有待我們收入更多的病人後加以釐清，今年由於追蹤時間不足，

尚無法回答潛伏結核感染陽性肺癌病人在接受治療後活動性肺結核的發病情形，希望在增加追蹤時間後可以發現差異。我們也發現了interleukin-2在診斷潛伏結核感染的價值，究竟IL-2對IGRA檢測為indeterminate的病人的確定診斷上有無幫忙，能否與IGRA一起搭配找出未來更有可能發病的高危險族群，都是我們未來會繼續努力的方向。也希望本研究明年能夠繼續進行，增加研究的成果。

計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

提供疾病管制局制定未來結核病政策之參考

隨著結核病十年減半與都治計劃的推行，台灣結核病的控制與防治在過去幾年來有顯著的進步，但若要進一步降低結核病的發生率，建立潛伏結核感染偵測的標準作業流程與治療建議有一定的重要性，尋找潛伏結核感染的高危險族群，在特定的族群進行潛伏結核感染檢測，則可以幫助我們減少檢驗上成本的花費。

肺癌病人的存活率在近年來隨著治療的進展有顯著的延長，但諸多的臨床因子讓這些病人同時也是將來活動性結核病發病的高危險族群。我們今年的研究顯示這群病人同時合併潛伏結核感染的機會是偏高的，接近40%，這與這些病人多為高齡和合併多種慢性疾病都可能有關，對這群病人進行潛伏結核感染檢測應是符合經濟效益的作法。若是針對同時合併危險因子（如高齡>65歲、抽煙、男性、過去結核病史、無BCG scar）的病人來進行，經濟效益更高。

在使用IGRA方法進行潛伏結核感染檢測的同時，會有一定的比例出現無法判讀的結果(indeterminate)，我們的研究顯示在肺癌的族群，可能由於合併高齡與其他多種合併症的原因，出現無法判讀結果的比例更高，這些病人很可能意謂著免疫功能不良，更需要密切追蹤未來發生活動性結核病的可能性。

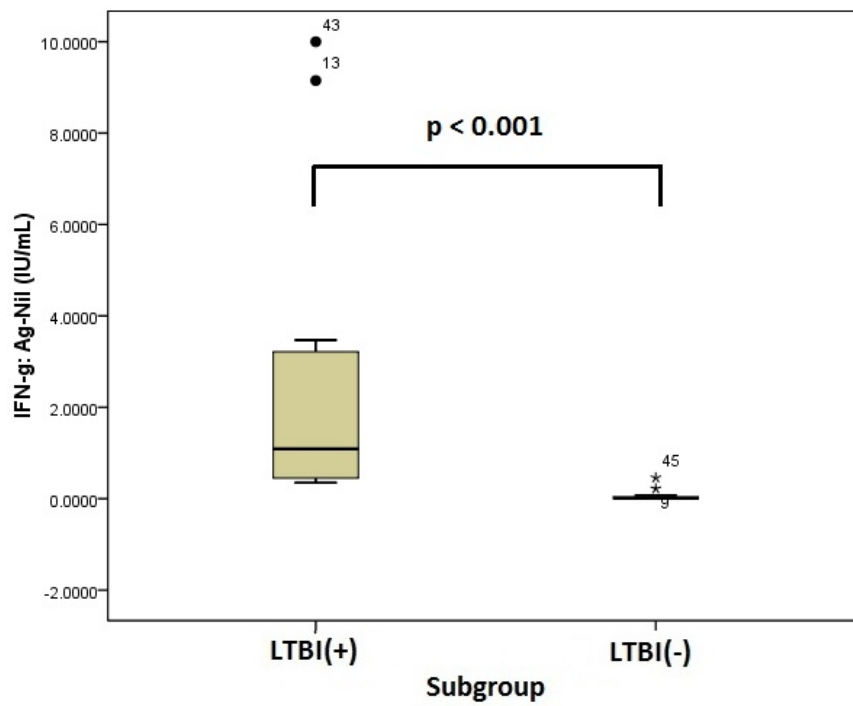
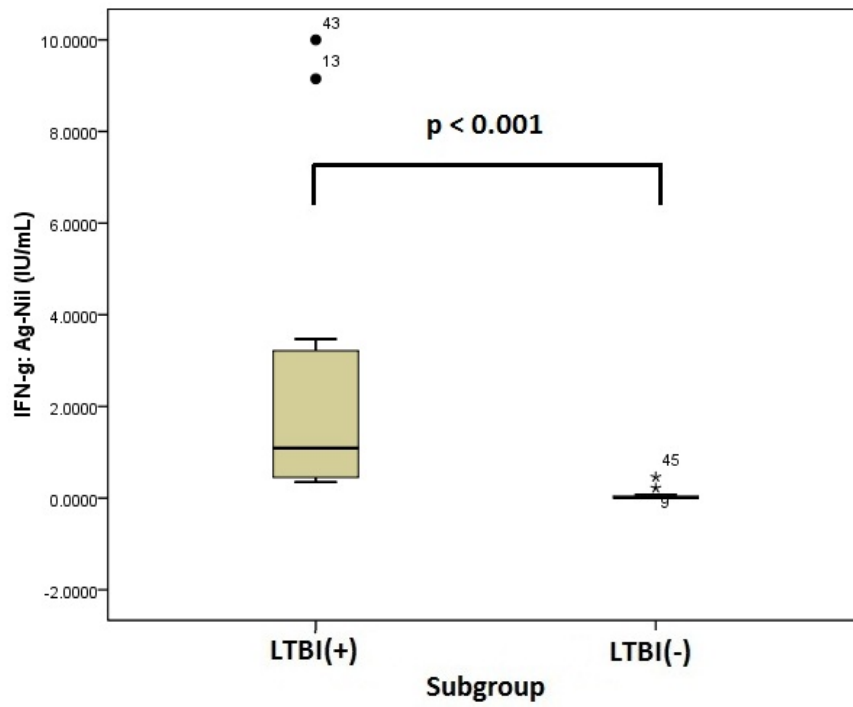
找出潛伏結核感染病人的最終目的仍是希望能夠提供潛伏結核感染的預防性治療。不可否認高齡又合併多種合併症的病人在接受INH 預防性治療之後發生副作用的危險性很可能也較高，但究竟這些病人若不接受預防性治療將來發病的情形如何，治療後發生肝功能異常的比例為何，預防的效果有多少，都值得我們繼續的研究來回答這些問題，我們也很需要有本土化的資料來瞭解我們病人的特性。即便病人最後選擇不願意接受潛伏結核感染的預防性治療，提早辨認出高危險的族群進而主動密切追蹤未來活動性結核病的發病情形，仍然有其臨床上與公共衛生上的價值，值得我們繼續做下去。

參考文獻

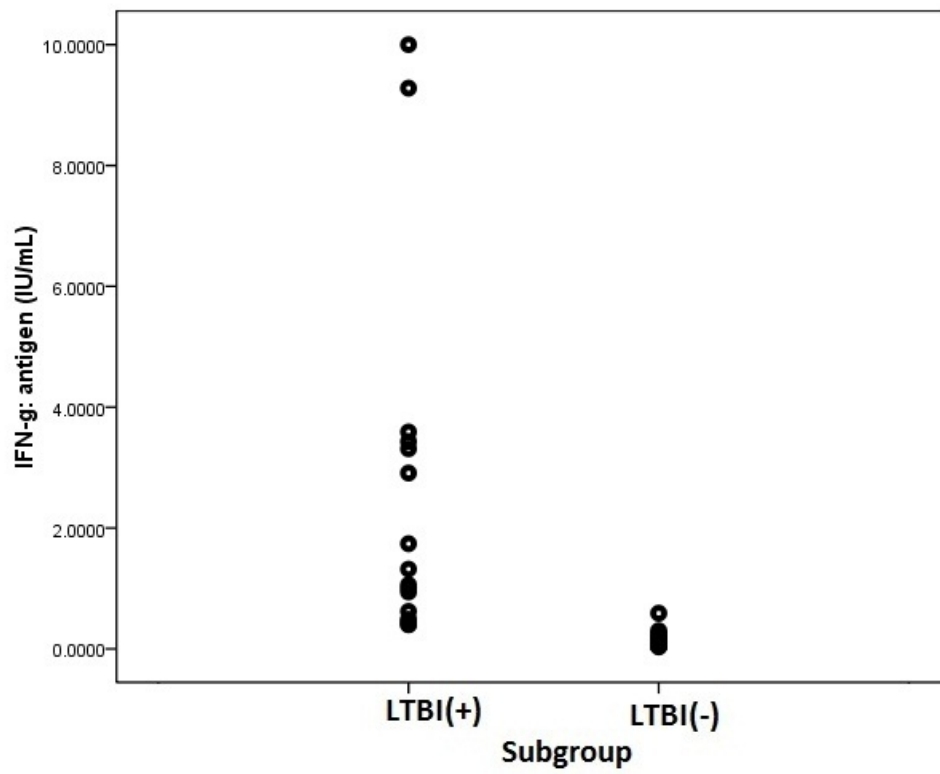
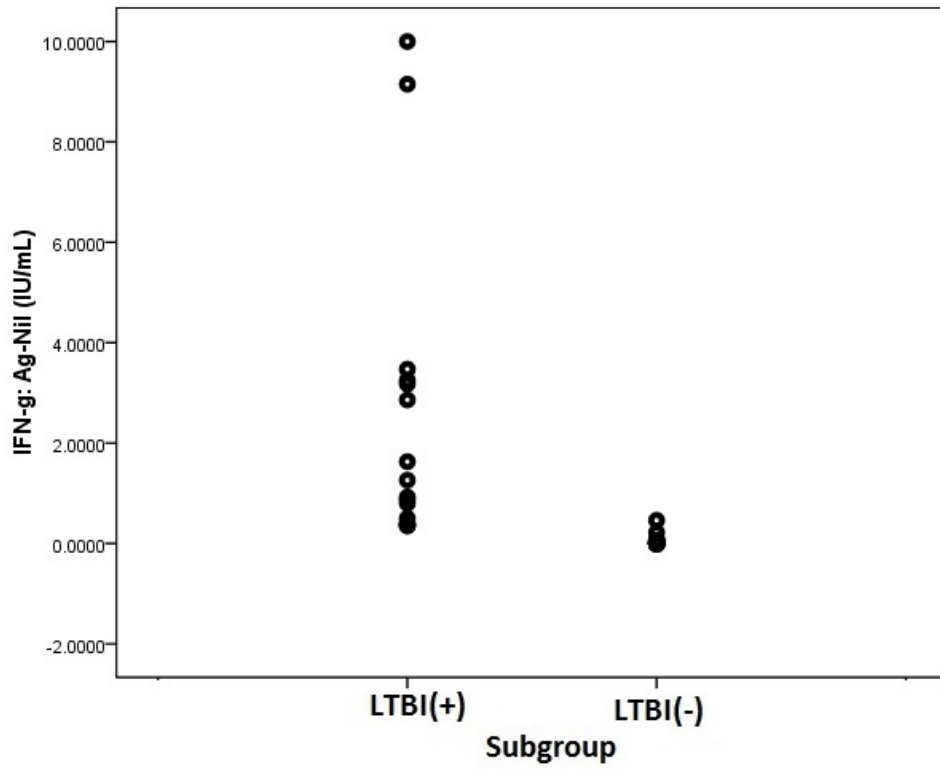
1. World Health Organization Global tuberculosis control—surveillance, planning, financing. Geneva. WHO/HTM/TB/2008.393.
2. Feng JY, Su WJ*, Chiu YC, Huang SF, Lin YY, Huang RM, Lin CH, Hwang JJ, Lee JJ, Yu MC, Yu KW, Lee YC. Initial Presentations Predict Mortality in Pulmonary Tuberculosis Patients - A Prospective Observational Study. *PLoS One*. 2011;6(9):e23715
3. Yoo SS, Cha SI, Shin KM, Lee SY, Kim CH, Park JY, Jung TH. Bacterial pneumonia following cytotoxic chemotherapy for lung cancer: clinical features, treatment outcome and prognostic factors. *Scand J Infect Dis*. 2010;42:734-70.
4. Vento S, Cainelli F, Temesgen Z. Lung infections after cancer chemotherapy. *Lancet Oncol*. 2008;9:982-992.
5. Chen YM, Chao JY, Tsai CM, Lee PY, Perng RP. Shortened survival of lung cancer patients initially presenting with pulmonary tuberculosis. *Jpn J Clin Oncol*. 1996;26:322-327.
6. Lange C, Mori T. Advances in the diagnosis of tuberculosis. *Respirology*. 2010;15:220-240.
7. Pai M, O'Brien R. New diagnostics for latent and active tuberculosis: state of the art and future prospects. *Semin Respir Crit Care Med*. 2008;29:560-568.
8. Joos TJ, Miller WC, Murdoch DM. Tuberculin reactivity in bacille Calmette-Guérin vaccinated populations: a compilation of international data. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006;10:883-891.
9. Tsiouris SJ, Coetzee D, Toro PL, Austin J, Stein Z, El-Sadr W. Sensitivity analysis and potential uses of a novel gamma interferon release assay for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2844-2850.
10. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med*. 2007;146:340-354..
11. Diel R, Loddenkemper R, Niemann S, Meywald-Walter K, Nienhaus A. Negative and Positive Predictive Value of a Whole-Blood IGRA for Developing Active TB - An Update. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Aug 27. [Epub ahead of print]
12. Mazurek M, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep*. 2010;59:1-25.
13. Mardani M, Tabarsi P, Mohammadtaheri Z, Chitsaz E, Farokhzad B, Hadavand F, Gachkar L, Nemati K, Masjedi MR. Performance of QuantiFERON-TB Gold test compared to tuberculin skin test in detecting latent tuberculosis infection in HIV- positive individuals in Iran. *Ann Thorac Med*. 2010;5:43-46.
14. Kik SV, Franken WP, Mensen M, Cobelens FG, Kamphorst M, Arend SM, Erkens C, Gebhard A, Borgdorff MW, Verver S. Predictive value for progression to tuberculosis by IGRA and TST in immigrant contacts. *Eur Respir J*. 2010;35:1346-1353.
15. Mori T. Usefulness of interferon-gamma release assays for diagnosing TB infection and problems with these assays. *J Infect Chemother*. 2009;15:143-155.
16. Biselli R, Mariotti S, Sargentini V, Sauzullo I, Lastilla M, Mengoni F, Vanini V, Girardi E, Goletti D, D'Amelio R, Nisini R. Detection of interleukin-2 in addition to interferon-gamma discriminates active tuberculosis patients, latently infected individuals, and controls. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:1282-1284.

17. Syed Ahamed Kabeer B, Raman B, Thomas A, Perumal V, Raja A. Role of QuantiFERON-TB gold, interferon gamma inducible protein-10 and tuberculin skin test in active tuberculosis diagnosis. *PLoS One*. 2010;5:e9051.
18. Bordignon V, Bultrini S, Prignano G, Sperduti I, Piperno G, Bonifati C, Filippetti M, Toma L, Latini A, Di Cecio M, Giuliani A, Vocaturo A, Trento E, D'Agosto G, Francesconi F, Cataldo A, Vento A, Cilenti V, Berardesca E, Ameglio F, Cordiali Fei P, Ensoli F. High prevalence of latent tuberculosis infection in autoimmune disorders such as psoriasis and in chronic respiratory diseases, including lung cancer. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2011; 25:213-20.
19. Kim EY, Lim JE, Jung JY, Son JY, Lee KJ, Yoon YW, Park BH, Moon JW, Park MS, Kim YS, Kim SK, Chang J, Kang YA. Performance of the tuberculin skin test and interferon-gamma release assay for detection of tuberculosis infection in immunocompromised patients in a BCG-vaccinated population. *BMC Infect Dis*. 2009; 9:207.
20. Kim KH, Lee SW, Chung WT, Kim BG, Woo KS, Han JY, Kim JM. Serial interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection in patients treated with immunosuppressive agents. *Korean J Lab Med*. 2011; 31:271-8.
21. Syed Ahamed Kabeer B, Sikhmani R, Swaminathan S, Perumal V, Paramasivam P, Raja A. Role of interferon gamma release assay in active TB diagnosis among HIV infected individuals. *PLoS One*. 2009;4(5):e5718.
22. Papay P, Eser A, Winkler S, Frantal S, Primas C, Miehsler W, Angelberger S, Novacek G, Mikulits A, Vogelsang H, Reinisch W. Predictors of indeterminate IFN- γ release assay in screening for latent TB in inflammatory bowel diseases. *Eur J Clin Invest*. 2011 ;41(10):1071-6.

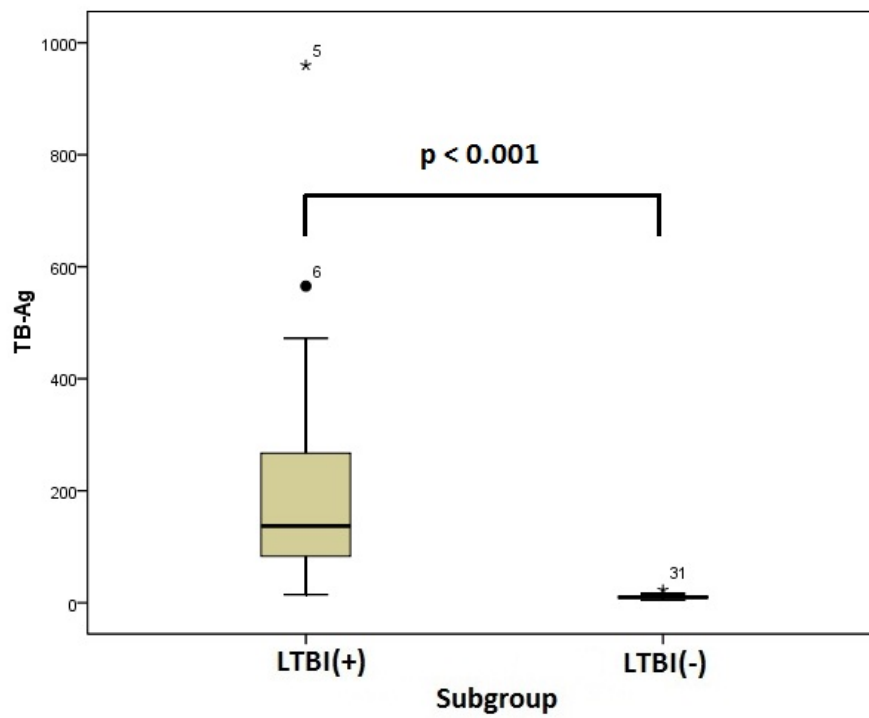
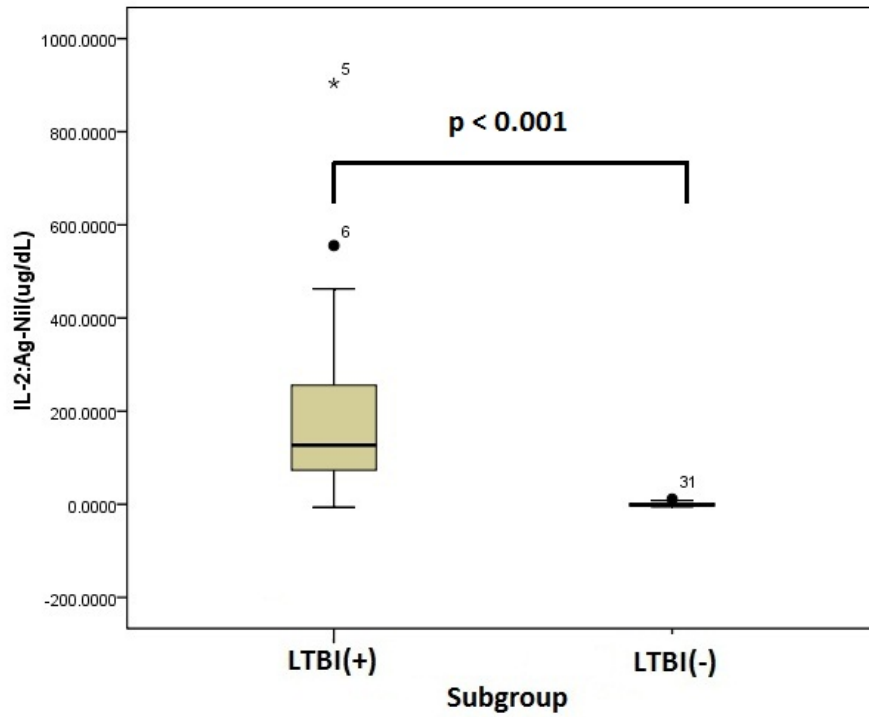
圖一. 潛伏結核感染陽性與陰性肺癌病人的Interferon gamma數值差異比較



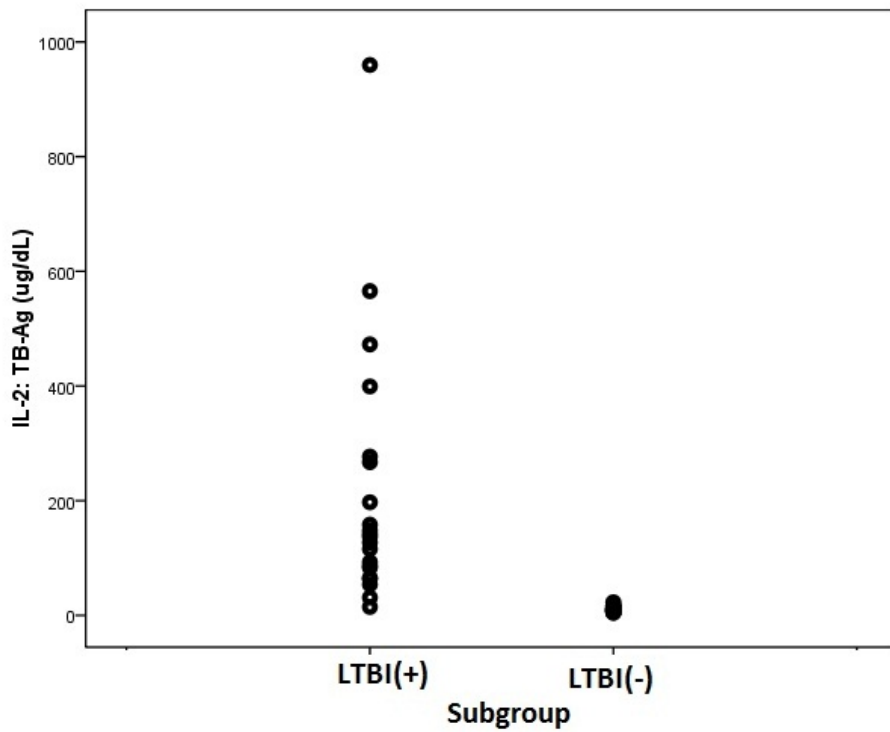
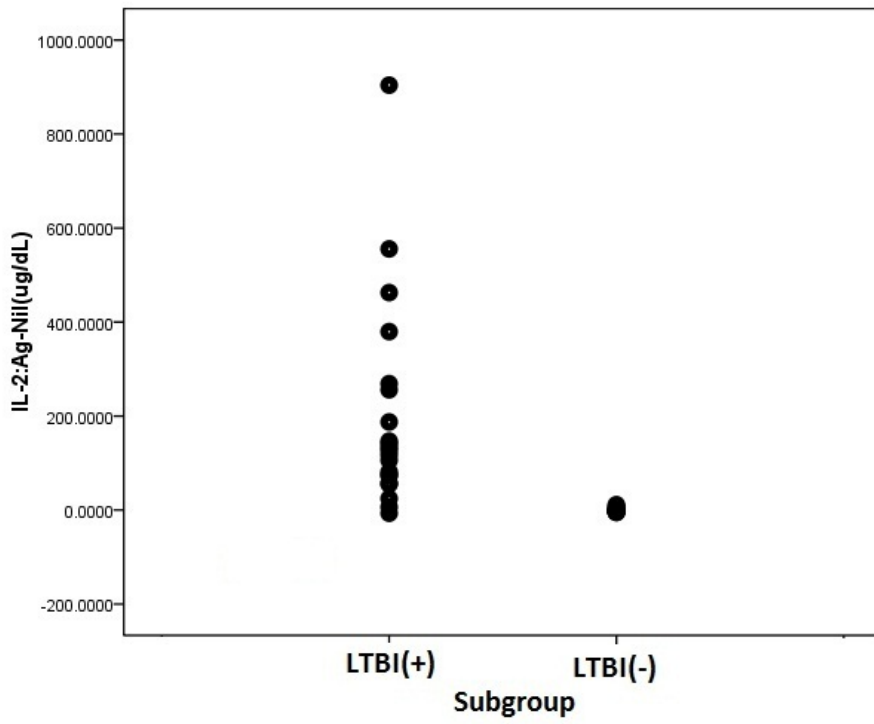
圖二、潛伏結核感染陽性與陰性肺癌病人的Interferon gamma數值分佈比較



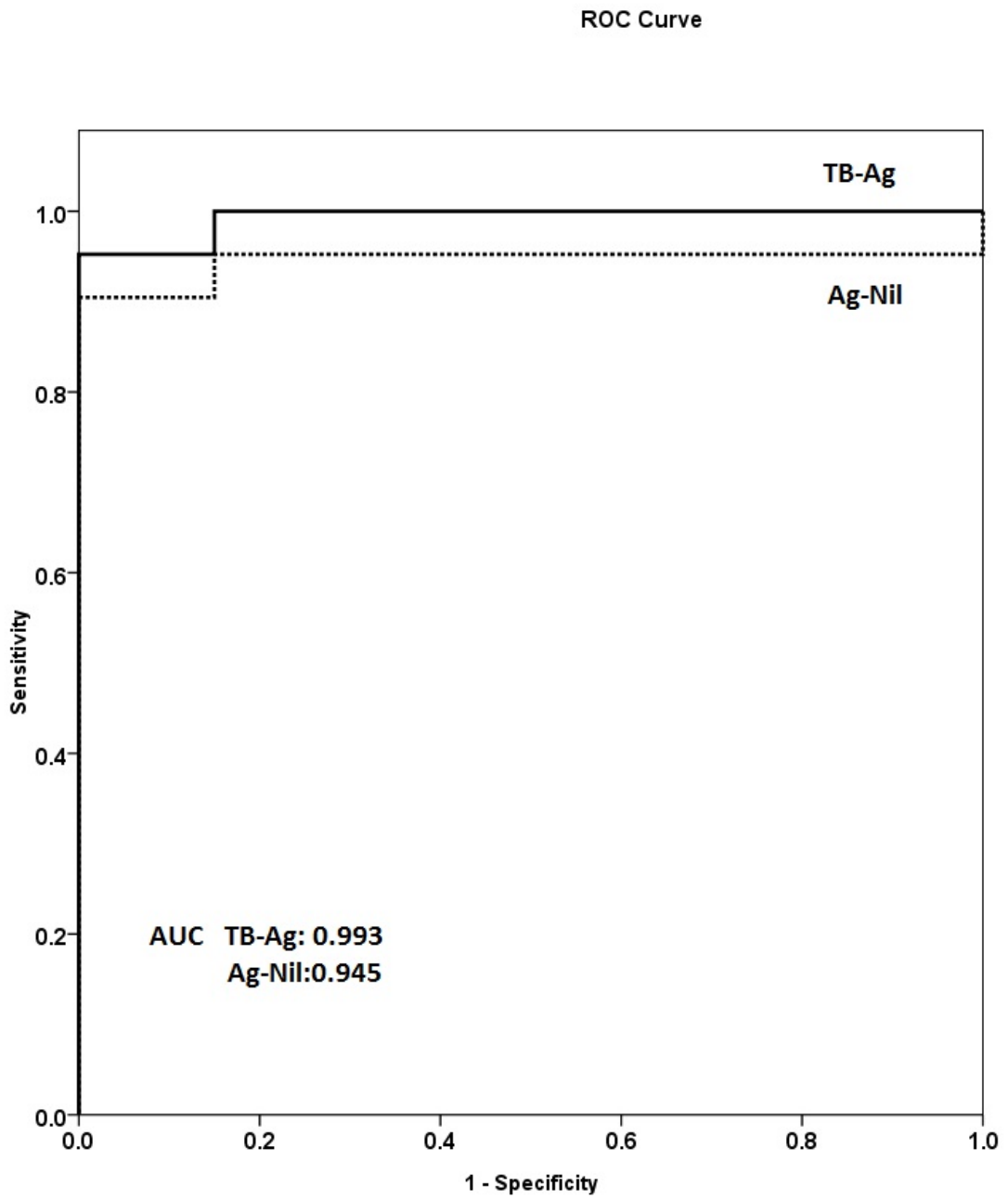
圖三、潛伏結核感染陽性與陰性肺癌病人的Interleukin-2數值差異分析



圖四、潛伏結核感染陽性與陰性肺癌病人的Interleukin-2數值分佈比較



圖五、使用Interleukin-2診斷潛伏結核感染之ROC curve



表一、潛伏結核感染陽性與陰性肺癌病人的臨床因子差異

	Overall, n=59	IGRA		P value
		Negative, n=35	Positive, n=24	
Age	73.5 (11.2)	70.6 (12.5)	77.9 (7.2)	0.013
Male gender	39 (66.1%)	22 (62.9%)	17 (70.8%)	0.53
BMI	22.5 (3.6)	22.3 (3.9)	22.7 (3.4)	0.71
Performance status				0.56
0	0	0	0	
1	51 (86.4%)	31 (88.6%)	20 (83.3%)	
2	8 (13.6%)	4 (11.4%)	4 (16.7%)	
Smoking habit	32 (54.2%)	15 (42.9%)	17 (70.8%)	0.034
Previous TB treatment	5 (8.5%)	2 (5.7%)	3 (12.5%)	
BCG scar	25 (42.4%)	17 (48.6%)	8 (33.3%)	0.25
Comorbidities				
Diabetes	7 (11.9%)	5 (14.3%)	2 (8.3%)	0.49
COPD	8 (13.6%)	3 (8.6%)	5 (20.8%)	0.18
Renal insufficiency	1 (1.7%)	0	1 (4.2%)	0.22
Liver cirrhosis	0	0	0	
HIV infection	0	0	0	
Gastrectomy	0	0	0	

表二、潛伏結核感染陽性與陰性肺癌病人的肺癌特色差異

	Overall, n=59	IGRA		P value
		Negative, n=35	Positive, n=24	
Lung cancer status				
Cell type				0.52
Adenocarcinoma	43 (72.9%)	28 (80%)	15 (62.5%)	
Squamous cell CA	5 (8.5%)	2 (5.7)	3 (12.5%)	
Small cell	9 (15.3%)	4 (11.4%)	5 (20.8%)	
Others	2 (3.4%)	1 (4.2%)	1 (4.2%)	
Staging				0.37
I	4 (6.8%)	4 (11.4%)	0	
II	3 (5.1%)	2 (5.7%)	1 (4.2%)	
III	10 (16.9%)	6 (17.1%)	4 (16.7%)	
IV	42 (71.2%)	23 (65.7%)	19 (79.2%)	

表三、IGRA結果為不確定的肺癌病人之臨床特色

	Overall, n=69	IGRA result		P value
		Definite, n=59	Indeterminate, n=10	
Age	71.7 (11.3)	73.5 (11.2)	67.3 (12.8)	0.54
Male gender	48 (69.6%)	39 (66.1%)	9 (90%)	0.13
BMI	22.5 (3.5)	22.5 (3.6)	22.1 (4.0)	0.88
Performance status				0.59
0	0	0	0	
1	58 (85.5%)	51 (86.4%)	7 (70%)	
2	11 (14.5%)	8 (13.6%)	3 (30%)	
Smoking habit	37 (55.1%)	32 (54.2%)	5 (50%)	0.74
Previous TB treatment	5 (7.2%)	5 (8.5%)	0	0.34
BCG scar	30 (44.9%)	25 (42.4%)	5 (50%)	0.30
Comorbidities				
Diabetes	11 (15.9%)	7 (11.9%)	4 (40%)	0.025
COPD	11 (15.9%)	8 (13.6%)	3 (30%)	0.19
Renal insufficiency	1 (1.4%)	1 (1.7%)	0	0.68
Liver cirrhosis	0	0	0	-
HIV infection	0	0	0	-
Gastrectomy	0	0	0	-
Lung cancer status				
Cell type				0.12
Adenocarcinoma	48 (68.1%)	43 (72.9%)	5 (50%)	
Squamous cell CA	7 (11.6%)	5 (8.5%)	2 (20%)	
Small cell	11 (15.9%)	9 (15.3%)	2 (20%)	
Others	3 (4.3%)	2 (3.4%)	1 (10%)	

Staging				0.71
I	5 (7.2%)	4 (6.8%)	1 (10%)	
II	3 (4.3%)	3 (5.1%)	0	
III	11 (15.9%)	10 (16.9%)	1 (10%)	
IV	50 (72.5%)	42 (71.2%)	8 (80%)	

表四、潛伏結核感染陽性與陰性病人的interferon gamma與interleukin

2 數值比較

	LTBI (+)	LTBI (-)	P value
IGRA(IU/mL)			
TB antigen (SD)	2.57 (2.82)	0.14 (0.12)	<0.001
TB antigen-Nil (SD)	2.48 (2.77)	0.04 (0.13)	<0.001
IL-2(ug/dL)			
TB antigen (SD)	212.3 (225.3)	10.5 (4.3)	<0.001
TB antigen-Nil (SD)	197.8 (219.2)	-0.2 (4.3)	<0.001

分項計畫 9： 醫護人員丙型干擾素釋放試劑檢測陽性之盛行率及陽轉之發生率與危險因子

摘要

A. 目的：

利用丙型干擾素釋放試劑，針對新進醫護人員進行追蹤測試

1. 瞭解新進醫護人員丙型干擾素釋放試劑測試呈陽性之橫斷面盛行率，並分析相關因子。
2. 對於陰性反應之新進醫護人員，利用前瞻性、定期丙型干擾素釋放試劑追蹤檢測，探討檢測結果陽轉之發生率，並分析危險因子。

利用丙型干擾素釋放試劑，追蹤檢測於未有妥善防護下、暴露開放性結核病患之醫護人員

3. 丙型干擾素釋放試劑測試陽轉之比率，與危險因子分析。
4. 丙型干擾素釋放試劑測試陽轉之接觸者，三年內發生結核病之發生率與危險因子。

B. 研究方法：

1. 設計：多醫院之前瞻性世代研究。
2. 機構：臺大醫院。
3. 免疫檢測（丙型干擾素釋放試劑）：
 - 甲、針對新進醫護人員，進行免疫檢測並收集相關資料；分析檢測結果呈陽性者的相關因子；檢測結果為陰性者，每半年追蹤檢測一次，以估算檢測結果陽轉之發生率及危險因子。檢測結果呈陽性的新進醫護人員，前瞻性追蹤其三年內發生結核病的發生率。
 - 乙、追蹤檢測於未有妥善防護下、暴露開放性結核病患之醫護人員，其丙型干擾素釋放試劑檢測結果陽轉的比率（得知暴露時一次，其後每二週一次，直到暴露後十二週截止）。對於檢測結果陽轉的醫護人員，追蹤其三年內結核病之發生率。

C. 主要發現：

在 56 位 TB 暴露之醫護人員中，共有 8 位 IGRA 為陽性，其中 3 位於第一次檢驗即為陽性，5 位於追蹤後轉為陽性；估計暴露後產生 seroconversion (潛伏性肺結核) 的機會為 8/56-5/53 之間 (14.29%-9.43%)。相較於新進員工即為潛伏性肺結核的盛行率為 7/120 (5.83%)。

D. 結論與建議事項：

以台灣現在每十萬人口約 80/10 萬人年的肺結核發生率狀況下，IGRA test 在醫院新進員工盛行率並不高，於 TB 暴露發生後，約有 14.29-9.43% 的醫護人員會發生陽轉，為一可行的追蹤方法，建議追蹤時間為暴露 3 個月後，應可偵測大部分陽轉個案，但此測驗之陽性預測率(positive prediction rate)及陰性預測率(negative prediction rate)尚無法估算，因 TB 發病率低且有較長潛伏期，仍須繼續追蹤，才能提供更重要的政策依據。

E. 關鍵字：丙型干擾素、醫護人員、開放性結核病暴露

前言

結核病仍是目前世界上最重要的感染症。根據世界衛生組織的估計，在公元 2001 到 2010 年這十年中，世界上大約會有三億人被結核分枝桿菌感染，大約會有三千萬人死於結核病¹。民國九十二年，台灣地區的結核病發生率仍然高達每十萬人口中有 62.4 人²。想要成功的控制結核病，就必須要能夠防止結核分枝桿菌的傳播，並且早期診斷及治療潛伏性結核病 (latent tuberculosis)。以往都只能倚賴結核菌素皮下測試 (tuberculin skin test) 來診斷潛伏性結核病。但這項檢查最大的問題就在於與卡介苗 (BCG) 以及環境中的非典型分枝桿菌 (NTM) 的抗原會有交互反應 (cross-reactivity)，導致偽陽性增加、陽性預測值偏低，這種情況，特別是在像台灣這樣非典型分枝桿菌普遍存在環境中 (圖一)、並且大部分民眾都接種卡介苗的地區，使得結核菌素皮下測試的準確度更低。民國九十年在台灣地區的調查，2.74% 的學齡前孩童結核菌素皮下測試反應為陽性，但同一年齡層中，結核病的發生率大約只有每十萬人口中 2.29 人²。再加上施打結核菌素後，病患需要再次的就醫以判讀結果，十分的不方便。而一部分反應強烈的病人，甚至會造成注射處的潰爛即感染。但目前已有新的方法，就是利用結核分枝桿菌特有的抗原—early-secreted antigenic target 6 (ESAT-6) 和 culture filtrate protein 10 (CFP-10) Tuberculosis antigen TB7.7—與週邊血液共同培養後，偵測免疫細胞所分泌的 γ 型干擾素，來判斷受試者是否為潛伏性結核病之患者。這樣的方法，已經被許多的研究證實遠比傳統的結核菌素皮下測試來的準確³⁻¹⁹，操作上十分簡便，病人也只需要一次就醫。

相較於一般民眾，醫療工作人員有更高的機會接觸到肺結核患者，可能也代表更高的機會會成為潛伏性或活動性結核病之患者。現有的追蹤方式：結核菌素皮下測試，由於有準確性低且需多次返診的問題，在臨床上願意配合結核菌素皮下測試檢查的醫療工作人員其實不高，因此是否能以新式的檢驗方法，即 γ 型干擾素檢驗，作為暴露追蹤或年度體檢的方法值得深入研究。

更進一步，若醫療工作人員為潛伏性結核病，即有可能發病或傳染給醫療環境中的脆弱患者，因此為潛伏性結核病之醫療工作人員是否須接受預防性治療亦為一重要議題，因此須先了解醫療工作人員為潛伏性結核病的盛行率以及轉變為活動性結核病的發生率，才能提供未來治療政策的指標。

材料與方法

i. 材料： γ 型干擾素試劑：

在我們的研究中使用的 r 型干擾素檢測試劑是QuantiFERON。操作步驟就如同之前的文章所提到的⁸，為以下的階段：

1. 全血與結核分枝桿菌特有抗原共同刺激培養一天。
2. 利用ELISA定量培養液中的 r 型干擾素，將血清放入96孔盤的培養盤中，每位受試者需要有 2 格，每格需要50 μ L血清，並且有4格置放標準液。
3. 經由與共軛劑結合後培養，在與酵素受質液結合培養，最後利用原廠 QuantiFERON 試劑定量其中的 r 型干擾素，結果會以每 mL 中有多少國際單位 (international unit) 的 r 型干擾素來表示。如果檢驗正確，至少一種抗原的刺激產生的 r 型干擾素必須要比陰性對照組大 0.35 個國際單位。把 ESAT-6 或 CFP-10 抗原所產生的 r 型干擾素的量扣掉陰性對照組的 γ 型干擾素的量，得到最後的結果。

ii. 研究方法：(如下圖二)

1. 收案方法：

甲、新進人員：

- i. 於新進人員參加新進課程時宣導。
- ii. 結合新進人員感控訓練課程。

乙、未經防護暴露接觸結核病患之醫護人員：

- i. 與結核病個管師聯繫，予以逐一詢問參與意願。

2. 追蹤方法

丙、丙型干擾素釋放試劑測試呈陰性無暴露員工每半年一次 γ 型干擾素測試。

丁、丙型干擾素釋放試劑測試呈陰性有暴露員工每兩週一次 γ 型干擾素測試。

戊、丙型干擾素釋放試劑測試一旦呈陽性之員工結合每年定期X-光流程追蹤是否成為活動性結核病患者，並且轉介相關科部門診，請門診醫師評估是否持續追蹤或是預防性治療。

己、預設研究目標人數與達成比率：

- i. 新進人員預設目標人數100人，收案人數120人，已達到目標120%。
- ii. 未經防護暴露接觸結核病患之醫護人員預設目標人數100人，收案人數56人，收案比率為56%。

iii. 檢討未經防護暴露接觸結核病患之醫護人員收案比率可歸納為以下幾點：

1. 因收案對象為未經防護暴露之醫護人員，其樣本人數來源不固定(要有發生暴露才会有可以收案對象產生)。
2. 設定追蹤抽血頻次為兩週一次，有部分個案反應抽血次數較為密集，會降低參與意願，故會再檢討收案頻次是否需要修正。
3. 因有重複暴露之可能性(例如某病房於某月曾有發生暴露案件，於數月後又發生暴露案件)，故可能有發生暴露案件但是其醫護人員已參與過此研究。
4. 因易有重複暴露之情形，故已收案之對象均會每半年抽血追蹤。若發現有陽性者，則會轉介相關門診就診。

庚、本年度收案累積進度表：

	1~4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月
新進人員	0人	2人	10人	40人	50人	80人	100人	120人
暴露員工	10人	20人	30人	40人	45人	55人	55人	56人

結果

自 2011 年 1 月，共有 201 位醫護同仁於本院發生 TB 暴露事件，有 56 位 TB 暴露之醫護人員加入研究，其中共有 8 位 IGRA 為陽性，其中 3 位於第一次檢驗即為陽性，5 位於追蹤後轉為陽性；估計暴露後產生 seroconversion (潛伏性肺結核) 的機會為 8/56-5/53 之間 (14.29~9.43%) (表一)。Seroconversion 發生時間有 3 位是追蹤後第二週，2 位是追蹤後第 4 週，平均發生於暴露後第 65 天(range)。

依現有之個案數加以分析，不論年齡或性別，或其他可能之危險因子，均無任一變相呈現與 seroconversion (latent Tb) 有相關性。

自 2011 年 1 月，共有 120 位新進員工加入此項研究，包含新進護理師及 PGY100 醫師，平均年齡為 24 歲，平均於入院後 22.6 天內完成抽血，92% 均有 BCG 痘疤，或 88% 明確表示曾接種 BCG 疫苗，120 人中 IGRA 陽性的盛行率為 7/120 (5.83%) (表 2)。

依現有之個案數加以分析，不論年齡或性別，或其他可能之危險因子，均無任一變相呈現與 IGRA 陽性(latent Tb) 有相關性。

所有個案截至目前為止並無 active TB 個案。

討論

TB 為人類已知即早既有的傳染病，但因許多診斷治療及防治的困難點，因此至今仍為一項重要之慢性傳染病，並與 HIV， malaria 並列為聯合國千禧年發展目標的防治重點。

TB 防治的困難點在於早期診斷不易、治療時間長並須多重藥物共同使用，增加順從度的困難；在各國展開 DOTS 計畫之後，初步看來對發生率之進步仍然有限，因此是否可在診斷治療之外，有可以著力的空間，例如潛伏性 TB 的診斷及預防？

過去的研究指出，TB 接觸後，約有 5% 的人會於 2 年內發病，其餘的人終其一生發病率為 5-10%。可是此項研究不能告訴我們 TB 接觸後實際上有多少人成為潛伏性 TB，及潛伏性 TB 的發病率。以醫院的狀況來說，TB 暴露是醫療工作同仁一項重要的健康風險，以台大醫院過去的經驗，3000 位第一線接觸病患的醫護同仁中，每年約有 300 位發生 TB 暴露(unpublish data, NTUH)，此些員工若進展為 active TB 不僅危害自身健康、並可能危害家人及其他病患的健康。因此如何發現 latent TB 個案，才有辦法進一步討論此些個案是否需要預防性治療。

以往診斷 latent TB 都只能倚賴結核菌素皮下測試 (tuberculin skin test, TST)。但這項檢查最大的問題就在於與卡介苗 (BCG) 以及環境中的非典型分枝桿菌 (NTM) 的抗原會有交互反應 (cross-reactivity)，導致偽陽性增加、陽性預測值偏低，這種情況，特別是在像台灣這樣非典型分枝桿菌普遍存在環境中 (圖一)、並且大部分民眾都接種卡介苗的地區，使得結核菌素皮下測試的準確度更低。而院內暴露追蹤時常使用的胸部 X-ray 檢查，其實也只能發現 active TB，無法診斷 latent TB。

但目前已有新的方法，就是利用結核分枝桿菌特有的抗原—early-secreted antigenic target 6 (ESAT-6) 和 culture filtrate protein 10 (CFP-10) Tuberculosis antigen TB7.7—與週邊血液共同培養後，偵測免疫細胞所分泌的 γ 型干擾素，來判斷受試者是否為潛伏性結核病之患者(interferon-gamma releasing assay, IGRAs)。這樣的方法，已經被許多的研究證實遠比傳統的結核菌素皮下測試來的準確³⁻¹⁹，操作上十分簡便，病人也只需要一次就醫。

過去 IGRA 的研究多侷限於家庭或工作接觸者，在 2011 年德國 Diel R, et al 的 1414

位 TB 暴露者的世代研究中發現，IGRA 的陽性率為 20.8%，成為 active TB 的 progression rate 為 10.3%。²³ 但是 IGRA 應用 HCWs 的追蹤研究較少，若要以 IGRA 進行追蹤我們也必須知道於台灣(中等 TB 發生率的區域) IGRA 的盛行率。

經由本項研究我們發現 IGRA 於新進員工的盛行率為 5.83%，於 TB 暴露發生後，約有 14.29-9.43% 的醫護人員會發生陽轉，為 TB 暴露後發展至 active TB 中途的 parameter 提供了重要的數據，而 latent TB 會有多少會進展為 active TB 人需後續長期的追蹤，並提供 IGRA test 之 positive prediction value (PPV) 及 negative prediction value (NPV) 本土重要數據 (因 PPV 及 NPV 會受到各地區的盛行率影響)。

本研究之限制為個案較少，因此於陽轉之分析上無法發現重要之危險因子，尚須繼續收案加以研究。並且本研究中並無同時進行 TST 的比較。但是 TST 與 IGRA test 一致性並不高，於過去許多研究中已有指出，且 TST 使用於本研究中超過 92% 有施打 BCG 的研究族群特異性較差，且亦有相當多研究指出，IGRA 具有相似於 TST 的敏感性但更高的特異性；因此本研究設計中並無與 TST 進行比較的必要。

結論與建議

以台灣現在每年每十萬人口約 80 人的肺結核發生率狀況下，IGRA test 在醫院新進員工盛行率並不高，於 TB 暴露發生後，約有 14.28-9.43% 的醫護人員會發生陽轉，為一可行的追蹤方法，建議追蹤時間為暴露 3 個月後，應可偵測大部分陽轉個案，但此測驗之陽性預測率(positive prediction rate)及陰性預測率(negative prediction rate)尚無法估算，因 TB 發病率低且有較長潛伏期，仍須繼續追蹤，才能提供更重要的政策依據。

計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

- i. IGRA test 在醫院新進員工盛行率 5.83%。
- ii. 於 TB 暴露發生後，陽轉率(latent TB)為 14.28-9.43%。
- iii. IGRA 使用為暴露追蹤建議時間為暴露 3 個月後。
- iv. IGRA 具有高敏感性及特異性，可使用於院內 TB 暴露追蹤方法，但由於單價較高，建議須繼續進行 PPV 及 NPV 的研究及 cost-effectiveness analysis，以了解是否後續可以與預防性治療加以結合。

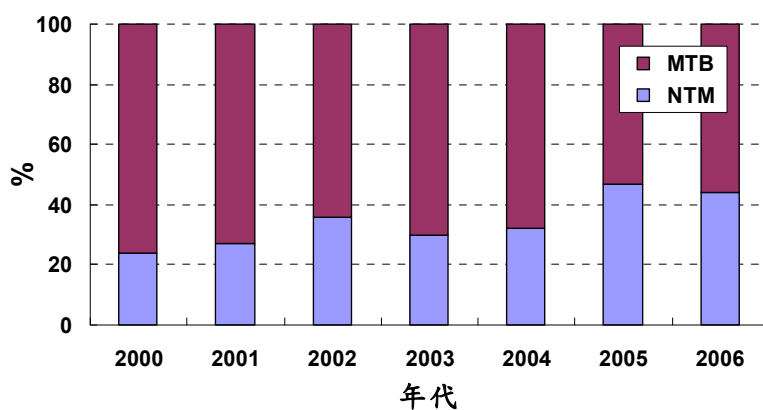
參考文獻

1. World Health Organization. Group at risk: WHO report on the tuberculosis epidemic. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1996.
2. Center for Disease Control. Statistics of communicable diseases and surveillance report in Taiwan area, 2003. Taipei, Taiwan: Center for Disease Control; 2004.
3. Arend SM, Andersen P, van Meijgaarden KE, Skjot RL, Subronto YW, van Dissel JT, *et al.* Detection of active tuberculosis infection by T cell responses to early-secreted antigenic target 6-kDa protein and culture filtrate protein 10. *J Infect Dis.* 2000;181:1850-4.
4. Brock I, Weldingh K, Leyten EMS, Arend SM, Ravn P, Andersen P. Specific T-cell epitopes for immunoassay-based diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection. *Journal of Clinical Microbiology.* 2004;42:2379-87.
5. Cardoso FLL, Antas PRZ, Milagres AS, Geluk A, Franken KLMC, Oliveira EB, *et al.* T-cell responses to the Mycobacterium tuberculosis-specific antigen ESAT-6 in Brazilian tuberculosis patients. *Infection and Immunity.* 2002;70:6707-14.
6. Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, Pathan AA, Ewer K, Ayles H, *et al.* Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of Mycobacterium tuberculosis-specific T cells. *Aids.* 2002;16:2285-93.
7. Lein AD, Von Reyn CF, Ravn P, Horsburgh C.R, Jr., Alexander LN, Andersen P. Cellular immune responses to ESAT-6 discriminate between patients with pulmonary disease due to Mycobacterium avium complex and those with pulmonary disease due to Mycobacterium tuberculosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.* 1999;6:606-9.
8. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, *et al.* Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:59-64.
9. Munk ME, Arend SM, Brock I, Ottenhoff THM, Andersen P. Use of ESAT-6 and CFP-10 antigens for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis [2]. *Journal of Infectious Diseases.* 2001;183:175-6.
10. Mustafa AS, Amoudy HA, Wiker HG, Abal AT, Ravn P, Oftung F, *et al.* Comparison of antigen-specific T-cell responses of tuberculosis patients using complex or single antigens of Mycobacterium tuberculosis. *Scand J Immunol.* 1998;48:535-43.
11. Ravn P, Demissie A, Eguale T, Wondwosson H, Lein D, Amoudy HA, *et al.* Human T cell responses to the ESAT-6 antigen from Mycobacterium tuberculosis. *J Infect Dis.* 1999;179:637-45.
12. Rolinck-Werninghaus C, Magdorf K, Stark K, Lyashchenko K, Gennaro ML, Colangeli R, *et al.* The potential of recombinant antigens ESAT-6, MPT63 and mig for specific discrimination of Mycobacterium tuberculosis and M. avium infection. *European Journal of Pediatrics.* 2003;162:534-6.
13. Scarpellini P, Tasca S, Galli L, Beretta A, Lazzarin A, Fortis C. Selected pool of peptides from ESAT-6 and CFP-10 proteins for detection of Mycobacterium tuberculosis infection. *Journal of Clinical Microbiology.* 2004;42:3469-74.
14. Ulrichs T, Anding P, Porcelli S, Kaufmann SHE, Munk ME. Increased numbers of ESAT-6- and purified protein derivative-specific gamma interferon-producing cells in subclinical and active tuberculosis infection. *Infection and Immunity.* 2000;68:6073-6.
15. Van Pinxteren LAH, Ravn P, Agger EM, Pollock J, Andersen P. Diagnosis of tuberculosis based on the two specific antigens ESAT-6 and CFP10. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.* 2000;7:155-60.
16. Vekemans J, Lienhardt C, Sillah JS, Wheeler JG, Lahai GP, Doherty MT, *et al.* Tuberculosis contacts but not patients have higher gamma interferon responses to ESAT-6

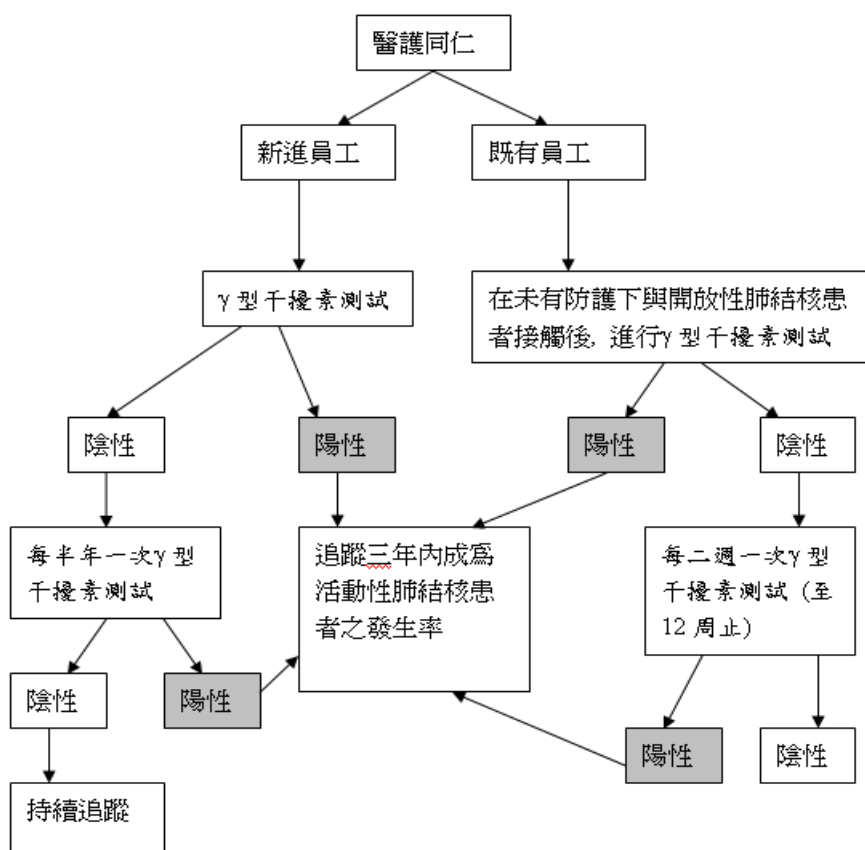
- than do community controls in The Gambia. *Infect Immun*. 2001;69:6554-7.
17. Vekemans J, Ota MOC, Sillah J, Fielding K, Alderson MR, Skeiky YAW, *et al*. Immune Responses to Mycobacterial Antigens in the Gambian Population: Implications for Vaccines and Immunodiagnostic Test Design. *Infection and Immunity*. 2004;72:381-8.
 18. Vincenti D, Carrara S, De Mori P, Pucillo LP, Petrosillo N, Palmieri F, *et al*. Identification of early secretory antigen target-6 epitopes for the immunodiagnosis of active tuberculosis. *Molecular Medicine*. 2003;9:105-11.
 19. Wu-Hsieh BA, Chen CK, Chang JH, Lai SY, Wu CH, Cheng WC, *et al*. Long-lived immune response to early secretory antigenic target 6 in individuals who had recovered from tuberculosis. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1336-40.
 20. Nolte FS, Metchock B. Mycobacterium. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1995. p. 400-37.
 21. O'Sullivan CE, Miller DR, Schneider PS, Roberts GD. Evaluation of Gen-Probe amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test by using respiratory and nonrespiratory specimens in a tertiary care center laboratory. *J Clin Microbiol*. 2002;40:1723-7.
 22. Blumberg HM, Burman WJ, Chaisson RE, Daley CL, Etkind SC, Friedman LN, *et al*. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: treatment of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167:603-62.
 23. Diel R, Loddenkemper R, Niemann S, *et al*. Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon- γ release assay for developing active tuberculosis. *Am J Crit Care Med* 2011; 183: 88-95.

圖、表

圖一：臺大醫院歷年來分離之分枝桿菌比例



圖二：收案流程圖：



表一：暴露員工基本資料

暴露員工 N=56		陰性 N=48	陽性 N=8
職稱	護理師 25	18 (72%)	7 (28%)
	護理長 1	1(100%)	0 (0%)
	實習醫師 4	4 (100%)	0 (0%)
	住院醫師 19	19 (100%)	0 (0%)
	主治醫師 7	6 (85.71%)	1 (17.29%)
年齡 Mean ± SD		33.49±8.33	35.52±8.26
性別	男 18	17(94.44%)	1 (5.56%)
	女 38	30 (78.95%)	8 (26.67%)
照護指標 個案時的 醫療行為 有無高危 險行為 (複選)	抽痰 16	12 (75%)	4 (26%)
	插管 12	9 (75%)	3 (25%)
	協助插管 13	11 (84.62%)	2 (15.38%)
	噴霧治療 1	1 (100%)	0 (0%)
本院工作 年資 (年)	Mean ± SD	7.43±7.92	8.98±8.21
是否有慢 性疾病	高血壓 3	3 (100%)	0 (0%)
	糖尿病 2	2 (100%)	0 (0%)
	氣喘 2	2 (100%)	0 (0%)
	痛風 0	0 (0%)	0 (0%)
	自體免疫疾病 1	0 (0%)	1 (100%)
	肝硬化 0	0 (0%)	0 (0%)
	腎臟功能不全 0	0 (0%)	0 (0%)

	其他	7	5 (71.43%)	2 (28.57%)
	無	41	36 (87.80%)	5 (12.2%)
是否有長期用藥	類固醇	2	1 (50%)	1 (50%)
	化療	0	0 (0%)	0 (0%)
	其他	4	4 (100%)	0 (0%)
	無	50	43 (86%)	7 (14%)
出生後是否接種 BCG 疫苗	是	46	41 (89.13%)	5 (10.87%)
	否	1	1 (100%)	0 (0%)
小學時候是否曾追加 BCG 疫苗	是	30	28 (93.33%)	2 (6.67%)
	否	13	9 (69.23%)	4 (30.77%)
過去曾經得過結核病	是	0	0 (0%)	0 (0%)
	否	56	48 (85.71%)	8 (14.29%)
過去是否有同住家人曾得過結核病	是	4	3 (75%)	1 (25%)
	否	52	45 (86.54%)	7 (13.46%)
暴露追蹤 X 光結果	No active lesion	49	42 (85.71%)	7 (14.29%)
	Abnormal, need to follow up		0 (0%)	0 (0%)
	No specific		1 (100%)	0 (0%)

	finding	1		
	未有 X 光資料	5	4 (80%)	1 (20%)
首次抽血陽轉			0	3
第二週陽轉			0	3
第四週陽轉			0	2
第六週陽轉			0	0
第八週陽轉			0	0
第十週陽轉			0	0
未追蹤完畢 (尚未追滿 12 週)			2	0
暴露到抽血間隔 Mean \pm SD (以指標個案住院日計算)			0	40 \pm 2.82
指標個案				
X 光結果	開洞		0 (0%)	0 (0%)
	無開洞	56	48 (85.71%)	8 (14.29%)
	單側	43	37 (86.05%)	6 (13.95%)
	雙側	5	4 (80%)	1 (20%)
指標個案	3 價		0 (0%)	0 (0%)
痰液抹片 結果(三次 平均)	2 價		0 (0%)	0 (0%)
	1 價		0 (0%)	0 (0%)
	小於 1 價		48 (85.71%)	8 (14.29%)

表二：新進人員基本資料

新進員工 N=120		陰性 n=113	陽性 n=7
職稱	護理師 86	82 (95.35%)	4 (4.65%)
	PGY 住院醫師 28	25 (89.29%)	3 (10.71%)
	M5 見習醫師 5	5 (100%)	0 (0%)
	其他 1	1 (100%)	0 (0%)
年齡 Mean ±SD		23.96±2.94	23.74±2.91
性別	男 20	20 (100%)	0 (0%)
	女 100	93 (93%)	7 (7%)
現居地	自住 18	17 (94.44%)	1 (5.56%)
	與家人同住 40	39 (97.5%)	1 (2.5%)
	宿舍 61	56 (91.8%)	5 (8.2%)
就職日與 抽血日間 隔	Mean ± SD	22.6±31.18	4.33±0.577
是否曾於 醫院見實 習	是 105	99 (94.29%)	6 (5.71%)
	否 15	14 (93.33%)	1 (6.67%)
工作前暴 露醫療環 境期間 (月)	Mean ± SD	9.22±10.14	9.98±12.58
有無接觸 病人	有 87	83 (95.4%)	4 (4.6%)
	無 5	3 (60%)	2 (40%)
	未實習 15	14 (93.33%)	1 (6.67%)

	未回答	13	13 (100%)	0 (0%)
是否有慢性疾病 (複選)	高血壓	1	1 (100%)	0 (0%)
	糖尿病	0	0 (0%)	0 (0%)
	氣喘	0	5 (100%)	0 (0%)
	痛風	0	0 (0%)	0 (0%)
	自體免疫疾病	0	0 (0%)	0 (0%)
	肝硬化	0	0 (0%)	0 (0%)
	腎臟功能不全	0	0 (0%)	0 (0%)
	其他	8	8 (100%)	0 (0%)
	無	106	99 (93.4%)	7 (6.6%)
暴露追蹤 X 光結果	OK	103	96 (93.2%)	7 (6.8%)
	Abnormal, need to f/u	1	1 (100%)	0 (0%)
	Non-specific abnormal	1	1 (100%)	0 (0%)
	未有 X 光報告	14	14 (100%)	0 (0%)
是否有長期用藥	類固醇	0	0 (100%)	0 (0%)
	化療	0	0 (100%)	0 (0%)
	其他	7	7 (100%)	0 (0%)
	無	113	106 (93.8%)	7 (6.19%)
出生後是否接種 BCG 疫苗	是	105	99 (94.29%)	6 (5.71%)
	否	1	1 (100%)	0 (0%)
	不知道	13	12 (92.31%)	1 (7.69%)
小學時候 是否曾追	是	27	24 (88.89%)	3 (11.11%)
	否	24	24 (100%)	0 (0%)

加 BCG 疫苗	不知道	66	62 (93.94%)	4 (6.06%)
是否有 BCG 疫苗痘疤	是	110	103 ((93.64%)	7 ((6.36%)
	否	7	7 (100%)	0 (0%)
過去曾經得過結核病	是	1	0 (0%)	1 (100%)
	否	118	112 (94.92%)	6 (5.08%)
過去是否有同住家人曾得過結核病	是	2	2 (100%)	0 (0%)
	否	118	111 (94.07%)	7 (5.93%)
過去是否曾接觸結核病人	是	59	55 (93.22%)	4 (6.78%)
	否	58	55 (94.83%)	3 (5.17%)

附錄

(表一)新進員工問卷

收案號:_____

年齡:_____

性別:_____

現居住地：

自住

家人同住

宿舍

新擔任職務名稱:_____

科部_____

單位_____

畢業學校_____

畢業時間____年____月

就職日期____年____月____日

就學期間 是否曾於醫院見實習是 否 (含他院見實習)

	醫院名稱	時間	工作性質	有無直接接觸病人
1		____年____月到____年____月		
2				
3				

畢業後是否曾於他院服務是 否

	醫院名稱	時間	工作性質	有無直接接觸病人
1		____年____月到____年____月		
2				
3				

個人病史

是否有慢性疾病 是 否

高血壓 糖尿病 氣喘 痛風 自體免疫疾病 肝硬化

腎臟功能不全 其他_____

新進員工胸部X光檢查結果:

是否有長期用藥 是 否

類固醇, 劑量_____ 使用期間_____

化療_____

其他_____

出生後是否接種BCG疫苗是 否 不知道

小學時是否曾追加BCG疫苗是, 時間_____ 否 不知道

是否有BCG疫苗痘疤是 否

過去是否曾得過結核病是 否

如果是續填

發生時間_____

治療用藥

RIF (Rifampin) INH EMB PZA 不知道

治療期間____年____月到____年____月

感染部位

開放性非開放性

過去是否有 **同住** 家人曾得過結核病是 否

如果是續填

與病人關係

發生時間_____

治療用藥

RIF (Rifampin) INH EMB PZA 不知道

治療期間

已完成(≥6個月) 未完成(<6個月) 治療中 不知道

感染部位

開放性非開放性

過去是否曾接觸結核病人是 否

旅遊史

過去是否曾於國外居住大於一個月 是 否

時間____年____月到____年____月

地點
原因

過去6個月是否曾於國外旅遊 是 否

	國家/城市	時間	目的
1		____年 ____月到 ____年 ____月	
2		____年 ____月到 ____年 ____月	
3		____年 ____月到 ____年 ____月	

(表二)測試陽轉問卷

收案號:_____

年齡:_____

性別:_____

職務名稱:_____

科部_____

單位_____

單位每月照護肺結核病患個案人數(大約) _____人

現在病史

這半年是否有咳嗽現象是 否

這半年是否有在非刻意減重情形下體重減輕是 否

這半年是否有夜間盜汗情形是 否

X光片檢查結果: _____

照護指標個案時，醫療行為包括：(可複選)

抽痰 插管 協助插管 噴霧治療 以上均無

平日進入病人病室是否均有配戴外科口罩

100% 75% 50% 25% 0%

平日於門診診間是否均有配戴外科口罩

100% 75% 50% 25% 0% 不適用(未於門診服務)

旅遊史

過去6個月是否曾於國外旅遊 是 否

	國家/城市	時間	目的
1		____年 ____月到 ____年 ____月	
2		____年 ____月到 ____年 ____月	
3		____年 ____月到 ____年 ____月	

(表三)肺結核暴露問卷

暴露指標個案資料

年齡: _____

性別: _____

入院原因: _____

過去病史: _____

住院日: ____年__月__日,

隔離日: ____年__月__日

(I)呼吸道檢體送驗日期: ____年__月__日

抹片耐酸性染色報告: 陽性_+ 陰性

培養報告: TB NTM MDRTB 檢驗中

(II)呼吸道檢體送驗日期: ____年__月__日

抹片耐酸性染色報告: 陽性_+ 陰性

培養報告: TB NTM MDRTB 檢驗中

(III)呼吸道檢體送驗日期: ____年__月__日

抹片耐酸性染色報告: 陽性_+ 陰性

培養報告: TB NTM MDRTB 檢驗中

X-光: 單側 雙側 有空洞 肺積水

醫護人員資料

收案號: _____

年齡: _____

性別: _____

職稱: _____

單位: _____

(單位風險)單位每月照護肺結核病患個案人數(大約) _____人

從何時開始照顧指標個案? ____月__日

照顧指標個案暴露期間: ____日

接觸指標個案時有無佩戴外科口罩有 無

照護指標個案時, 醫療行為包括:

抽痰 插管 協助插管 噴霧治療 以上均無

本院工作年資____年 (護理師自就業起計算, 醫師自實習醫師起計算)

外院工作年資____年

平日進入病人病室是否均有配戴外科口罩

100% 75% 50% 25% 0%

平日於門診診間是否均有配戴外科口罩

100% 75% 50% 25% 0% 不適用(未於門診服務)

個人病史

是否有慢性疾病 是 否

高血壓 糖尿病 氣喘 痛風 自體免疫疾病 肝硬化
腎臟功能不全 其他_____

是否有長期用藥 是 否

類固醇, 劑量_____ 使用期間_____
化療_____
其他_____

出生後是否接種BCG疫苗是 否 不知道

小學時是否曾追加BCG疫苗是, 時間_____ 否 不知道

是否有BCG疫苗痘疤是 否

過去是否曾得過結核病是 否

如果是續填

發生時間_____

治療用藥

RIF (Rifampin) INH EMB PZA 不知道

治療期間____年____月到____年____月

感染部位

開放性非開放性

過去是否有 **同住** 家人曾得過結核病是 否

如果是續填

與病人關係_____

發生時間_____

治療用藥

RIF (Rifampin) INH EMB PZA 不知道

治療期間

已完成(≥6個月) 未完成(<6個月) 治療中 不知道

感染部位

開放性非開放性

暴露追蹤 X 光結果：

日期：_____

結果：_____

過去6個月是否曾於國外旅遊 是 否

	國家/城市	時間	目的
1		____年 ____月到 ____年 ____月	
2		____年 ____月到 ____年 ____月	
3		____年 ____月到 ____年 ____月	

子計畫編號：4-1

子計畫名稱：抗結核藥物肝傷害的生物標記及療程中發生肝炎患者之不同加藥流程的成效比較，並進一步針對具嚴重肝硬化病患之二線抗結核藥治療處方探討

主持人：李麗娜

摘要

藥物性肝傷害(drug-induced liver injury)已成為極重要的醫學以及公共衛生議題，其重要性包括: 1) 病人的安全，以及 2) 公共衛生政策之制定與推行。例如: 抗結核治療進行之順利與否與抗結核藥物性肝傷害之發生有密切的關係。目前結核病在台灣之發生率仍居高不下，其原因固然很多，但抗結核藥物引起肝傷害，使得結核病患者易中斷治療，無疑是抗結核治療失敗的重要原因之一。

由我們先前之研究得知，我國結核病病人在抗結核治療進行中，有19%曾發生治療中肝傷害，並導致抗結核治療之中斷或改變，嚴重影響病人繼續接受治療之意願。傳統上偵測藥物性肝傷害的方法，是定期檢測肝功能。然而，其實並無證據顯示，此法可以降低藥物性肝傷害之發生率，目前亦無法由肝功能之檢測分辨哪些病人之肝指數異常會自動恢復，哪些病人會進行至嚴重之肝傷害。而且，傳統的肝功能檢查，其實都是肝傷害之晚期標記。因此，本計畫之第一部分，旨在探討結核病治療過程中發生藥物性肝傷害時，是否可找到生物標記，以幫助我們在最短的時間內，準確的診斷藥物性肝傷害。研究方法是，測量發生抗結核治療中肝炎時，血中的細胞激素濃度，並研究藥物代謝基因之多型性與抗結核藥物性肝傷害之間的關係。

本計畫之第二部分，則是探討，結核病治療過程中發生肝炎時，如何在最短的時間內，安全的重新使用上抗結核處方。研究方法是，將發生抗結核治療中肝炎之病人隨機分組，其中一組使用緩慢加藥法，另一組使用標準加藥法，探討如何在最短的時間內，安全的重新使用上抗結核處方。

本計畫之第三部分，將探討肝硬化病患，直接使用肝炎發生率低的抗結核藥二線處方之可行性。將有肝硬化之結核病患者，投予肝毒性較低的抗結核二線藥(Moxifloxacin與Kanamycin)，加上一線藥(Rifampin與Ethambutol)之治療成效。

本計畫之第一部分初步研究結果顯示，發生抗結核治療中肝炎時，血中的細胞激素IL-10、MCP-1、TNF- α 之上升與肝指數之上升較平行，IL-6、IL-17、IFN- γ 之上升與肝指數之上升較不平行，但仍須研究更多病例才能得到結論。至於藥物代謝基因pregnane、CYP1A1基因多型性與抗結核治療肝傷害之間的關係，亦需作更多病例才能得到結論。

本計畫之第二部分初步研究結果顯示，從2011年4月至10月，共有17位病人納入研究分析。經過隨機分派，9位分配於標準加藥組，8位分配於緩慢加藥組。重新給予INH+RMP成功有11位(64.7%)，於標準加藥組及緩慢加藥組中，分別有6位及5位上藥成功(66.7% vs 62.5%, p=1.00)。共有6位病患(標準加藥組及緩慢加藥組各3位)接受重新給予PZA，不論標準加藥組或緩慢加藥組，皆僅1位(33.3% vs 33.3%, p=1.00)患者成功重新給予PZA。

本計畫之第三部分初步研究結果顯示，由於收案困難，全年僅收到一例。肝硬化之病患晚期常病情嚴重，併肝腎症候群等，致無法接受抗結核藥物治療，致即使收案卻仍無法順利完治。

結論

- (1)發生抗結核治療中肝炎時，血中的細胞激素以及藥物代謝基因多型性可能成為抗結核藥物肝傷害之生物標記。
- (2)不論標準加藥組或緩慢加藥組，其重新用上第一線標準抗結核藥物的成功率似乎相同。標準加藥組可能可以縮短加藥所需耗費的時間，也可能可以縮短結核病人具有傳染力的時間，但目前個案數太少，須更大型的研究來支持此一推論。
- (3)肝病肝硬化病患(Child A to C)有極高肝毒性風險，是否有必要經由一線藥物標準

處方治療，徒增風險，有待進一步研究。治療後肝功能異常者，需常規以腹部超音波篩檢慢性肝病。此研究需結合多家機構，較能收集足夠之樣本數。

關鍵詞： 抗結核藥物，治療中肝，細胞激素，藥物代謝基因多型性，標準加藥組，緩慢加藥組，肝硬化，二線藥

Abstract

Ever since the successful development of isoniazid (INH) in 1950's and rifampicin (RIF) in 1970's, the treatment of tuberculosis (TB) has become efficient. However, the prevalence in Taiwan has remained high. One of the causes of TB control failure is adverse effects of anti-TB drugs that lead to interruption of treatment.

Hepatitis is one of the most important adverse effects of anti-TB chemotherapy. Traditionally, liver function test is the standard method to detect drug-induced liver injury. However, liver function test cannot differentiate between self-limited liver enzyme elevation and liver injury that may progress to liver failure. Moreover, liver function abnormality is a late, NOT early marker of liver injury. Thus the aim of our first part study is to investigate if plasma levels of cytokines, and if single nucleotide polymorphism (SNP) of drug-metabolizing genes can be used as early, reliable markers of drug-induced liver injury. The aim of our second study, is to investigate the best way to reintroduce standard first line anti-TB medications. The patients who develop hepatitis during anti-TB therapy would be randomly assigned to one group (standard re-introduction) or the other (slow re-introduction). The successful rate of re-introducing first-line anti-TB drugs of for either group would be compared. The aim of our third study, was to investigate if TB patients with concomitant liver cirrhosis can be treated safely and effectively with second-line anti-TB drugs (moxifloxacin and kanamycin) plus first-line anti-TB therapy (rifampicin and ethambutol).

Results of the first part of our proposal showed that levels of some cytokines and single-nucleotide polymorphisms (SNP) of pregnane gene and CYP1A1 gene are potential biomarkers of anti-TB therapy-induced liver injury.

Results of the second part of our proposal showed that among 17 patients that were enrolled, 9 were randomized into standard reintroduction group and 8 in slowly reintroduction group. Isoniazid(INH) and rifampicin(RMP) were reintroduced successfully in 11 patients (64.7%). The successful INH-RMP reintroduction rate seemed to be similar between standard reintroduction group and slowly reintroduction group (66.7% vs 62.5%, respectively , $p=1.00$). Pyrazinamide (PZA) was reintroduced in 6 cases (3 in standard reintroduction group and 3 in slowly reintroduction group) and the successful PZA reintroduction rate were similar low in both standard reintroduction group and slowly reintroduction group (33.3% vs 33.3%, respectively , $p=1.00$).

Results of our third part of proposal revealed that only one patient was enrolled in the entire year, and has been under observation up to now. Patients with liver cirrhosis and tuberculosis might be unable to receive anti-TB therapy, due to poor liver function and hepatorenal syndrome.

Conclusion:

1) Plasma levels of some cytokines, SNP of some drug-metabolizing genes may be potential biomarkers of drug-induced liver injury. A larger study with more cases was needed to confirm these findings.

2) The incidence of reintroduction associated adverse effects, including recurrence of hepatitis, might be similar between standard and slowly reintroduction regimens. INH and RMP might be reintroduced successfully in more than sixty-percentage of patients and associated with low rate of recurrence of hepatitis (5.9%). In contrast, reintroduction of PZA might be associated with high incidence of hepatitis recurrence. A larger study with more cases was needed to confirm these findings.

3) Patients with liver cirrhosis have high risk of developing hepatotoxicity during anti-TB therapy, and might not be able to receive the first-line anti-TB drugs. Abdominal ultrasonography might be needed in TB patients who develop hepatotoxicity during anti-TB therapy to rule out the presence of cirrhosis. In order to enroll enough number of

patients, such study needs the participation of several hospitals.

Key words: hepatitis during anti-tuberculous therapy, pregnane gene, *CYP1A1* polymorphism, standard reintroduction, slow reintroduction, cirrhosis, second-line drugs

壹、研究主旨

[本計畫之目標]:

- 1) 在結核病治療過程中發生藥物性肝傷害時，是否可找到生物標記，以幫助我們儘早準確的診斷藥物性肝傷害，判斷此種藥物性肝傷害是否為暫時之反應，判斷此種藥物性肝傷害的預後(復原、急性肝衰竭、肝硬化)，判斷此生物標記是否與某種特定之抗結核藥物 (如: isoniazid、rifampicin、pyrazinamide)有關
- 2) 在結核病治療過程中發生肝炎時，如何在最短的時間內，安全的重新使用上標準抗結核處方，重新上藥時，肝炎的復發率，以及各種藥物引發肝炎的機率
- 3) 針對肝硬化病患(Child A 或 B 或 C)直接使用肝炎發生率低的抗結核藥二線處方之治療成效、產生肝炎的比例、藥物副作用、復發比例與復發菌株的抗藥性。

[本計畫之工作項目]:

- 1) 在結核病病人接受抗結核藥物治療之前以及之後，定期抽血檢查肝功能、血中之細胞激素，並檢測 CYP1A2 及 pregnane X receptor 基因之基因型。
- 2) 健康接觸者抽血一次，檢查肝功能、血中之細胞激素，並檢測 CYP1A2 及 pregnane X receptor 基因之基因型。
- 3) 比較有發生抗結核藥物性肝傷害之病人、沒有發生抗結核藥物性肝傷害之病人及健康接觸者，他們血中之細胞激素及CYP1A2、pregnane X receptor基因之基因型，判斷是否可找到生物標記，能在最早期，準確的診斷藥物性肝傷害，並判斷此種藥物性肝傷害是否為暫時之反應，此種藥物性肝傷害的預後如何，以及此生物標記是否與某種特定之抗結核藥物 (如: isoniazid、rifampicin、pyrazinamide) 有關。
- 4) 找出結核病治療過程中發生肝炎的患者，篩檢患者病毒性肝炎指標。
- 5) 於肝炎恢復後，隨機分為兩組，選擇兩種逐一加藥的流程之一，重新開始治療：
 - i) Slow challenge group：由低劑量至高劑量，按照 Isoniazid → Rifampicin → Pyrazinamide 的順序，逐一加藥。
 - ii) Rapid challenge group：直接給予每種藥物之標準劑量，按照 Isoniazid → Rifampicin → Pyrazinamide 的順序，逐一加藥。
- 6) 持續追蹤(每週兩次)，直到重新使用上標準抗結核處方，若再次產生肝炎(加藥之後肝功能上升兩倍以上)，則停止該藥物，待肝功能回覆後，使用其他藥物繼續治療。
- 7) 比較兩組病人之治療結果及預後。
- 8) 結核病合併 Child A 或 B 或 C 肝硬化的患者，接受如下之抗結核藥物治療：Moxifloxacin (Mfx) + Rifampin (RMP) + Ethambutol (EMB) + Kanamycin (KM) 二個月，再加 Mfx + RMP + EMB 七個月
- 9) 如遇治療中產生肝毒性，先暫停 Rifampicin，待肝功能回復後嘗試以 Rifabutin(RBT)代替 RMP。
- 10) 若肝炎不再發生，則在整個療程之中使用 RBT 滿九個月。

- 11) 若再次發生肝毒性，則暫停 RBT 至肝功能回復，之後以 Cycloserine 取代 RBT，施以 12~18 個月之療程。
- 12) 觀察以二線藥物治療肝硬化病人之結果，包括治療成效、產生肝炎的比例、藥物副作用、復發比例與復發菌株的抗藥性。

貳、背景分析

藥物性肝傷害(drug-induced liver injury)已成為極重要的醫學以及公共衛生議題，其重要性包括三方面: 1) 病人的安全，2) 公共衛生政策之制定與推行，例如: 抗結核治療進行之順利與否與抗結核藥物性肝傷害之發生有密切的關係，3) 新藥之發展，藥物性肝傷害往往是新藥上市與站穩市場順利與否之關鍵之一 [1]。

從 isoniazid(INH)及 rifampicin(RIF)在 1950 及 1970 年代開發成功後，結核病已有很有效的藥物可治療。目前結核病在台灣之發生率仍居高不下[2]，其原因固然很多，但抗結核藥物引起肝傷害，使得結核病患者易中斷治療，無疑是抗結核治療失敗的重要原因之一[3-6]。

由我們先前之研究得知，我國結核病病人在抗結核治療進行中，有19%曾發生治療中肝傷害，並導致抗結核治療之中斷或改變[7]，嚴重影響病人繼續接受治療之意願。這些肝傷害發生後都曾導致抗結核治療之中斷或改變，嚴重影響病人繼續接受治療之意願，也嚴重影響醫護人員繼續治療病人之信心與意願。可見藥物性肝傷害在我國推動結核病十年減半計畫中，是必須認真思考、研究，希望能逐步降低其嚴重性的問題。

傳統上偵測藥物性肝傷害的方法，是定期檢測肝功能，台大研究團隊在先前之計畫”宿主基因特異性與肝炎病毒感染對抗結核病藥物引起肝毒性之影響與重要性”中，也是採用此法。然而，其實並無證據顯示，此法可以降低藥物性肝傷害之發生率 [8]。對許多種藥物(包括第一線抗結核藥物)而言，即使在使用中病人發生肝功能異常，若臨床上無症狀，並不一定需要停藥，肝指數之上升常會逐漸恢復正常。然而，目前並無法由肝功能之檢測分辨哪些病人之肝指數異常會自動恢復，哪些病人會進行至嚴重之肝傷害。而且，傳統的肝功能檢查，其實都是肝傷害之晚期標記。因此，如何找出某種生物標記，以其儘早準確的診斷藥物性肝傷害，可說是我們亟需解決的問題之一。除了傳統肝功能之檢測外，目前被使用來監測藥物性肝傷害之生物標記，包括基因、mRNA (transcriptome)、藥物代謝產物(蛋白質、醣類、脂肪、碳水化合物、氨基酸、有機酸等)、inflammatory cytokines、 anti-inflammatory cytokines等 [9-21]。這些生物標記，究竟是否能比傳統的肝功能更早偵測出藥物性肝傷害之發生，究竟是否能分辨哪些病人之肝指數異常會自動恢復，哪些病人會進行至嚴重之肝傷害，目前並不知道。

對於第一線抗結核藥物引起的藥物性肝傷害而言，目前對於 isoniazid 的代謝途徑、有毒代謝物較清楚，isoniazid 最重要的代謝途徑是 acetylation，其代謝酶是 N-acetyl transferase 2 (NAT2); 其次重要的代謝途徑是 oxidation，其代謝酶是 cytochrome P450 system 之 CYP2E1。isoniazid 的肝毒性代謝物有數種，其中最重要的是 hydralazine。由於 NAT2 基因之 phenotype 中之 slow acetylator，其 NAT2 酶對 hydralazine 之處理較慢，因此 slow acetylator 較易發生 isoniazid 引起的肝毒性 [22]。然而對於 rifampicin 或 pyrazinamide 而言，其肝毒性發生之機轉卻不清楚。目前已知 rifampicin 的代謝途徑包括 deacetylation (由 microsomal enzyme 負責)以及 hydrolysis，然而 rifampicin 所產生的肝毒性代謝物究竟是什麼，哪些病人是容易發生 rifampicin 肝傷害之高危險族群卻依然不清楚。Pyrazinamide 的情形也很相似，目前已知 pyrazinamide 的主要代謝途徑是 hydrolyzation (由 microsomal deaminase 負責)，然而其肝毒性代謝物以及發生 pyrazinamide 肝傷害之高危險族群亦屬未知[22]。

由我們先前之研究得知 [7]，國人CYP2E1之genotype與抗結核藥物肝傷害之風險高低無關，NAT2之genotype則與抗結核藥物肝傷害之風險高低有關。 slow acetylator 發生抗結核藥物肝傷害之風險為26%，而rapid acetylator發生抗結核藥物肝傷害之風險為13%。因此，至少仍約有13%之抗結核藥物肝傷害是經過未知的途徑。此外，我國女

性發生抗結核藥物之風險為24%，是男性(12%)的兩倍，其原因亦不清楚。

因此，本計畫之第一部分，將探討結核病治療過程中發生藥物性肝傷害時，是否可找到生物標記，以幫助我們：

a)在最短的時間內，準確的診斷藥物性肝傷害，因傳統的肝功能檢查項目，包括AST、ALT、ALP、gamma-GT、bilirubin、prothrombin time等，其實都是肝傷害之晚期標記(late indicator)

b)判斷此種藥物性肝傷害是否為暫時之反應，若是，則不須暫停或改變抗結核治療

c)判斷此種藥物性肝傷害的預後(復原、急性肝衰竭、肝硬化)

d)判斷此生物標記是否與某種特定之抗結核藥物(如: isoniazid、rifampicin、pyrazinamide)有關

我們欲研究的生物標記，包括：

◆ Pharmacogenomic study:

(a) Pregnane X receptor (PXR) gene [15]

(b) CYP1A2 gene [15a]

◆ Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines [18]:

Pro-inflammatory cytokines 如tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) 在 alcoholic以及 non-alcoholic steatohepatitis 都很重要，且與肝臟之inflammation、apoptosis、necrosis、cholestasis以及fibrosis 可能均有關。然而，pro-inflammatory cytokines 究竟是藥物性肝傷害的原因還是結果，目前還未釐清。但本計畫仍將測定幾種pro-inflammatory cytokines以及anti-inflammatory cytokines，原因是，pyrazinamide在小鼠的實驗已被證實會增加小鼠巨噬細胞釋出proinflammatory cytokines以及nitric oxide(Mendez S Traslavina R 2009)，因此我們假設，pyrazinamide引起的肝傷害可能與proinflammatory cytokines有關。

本計畫欲測定之pro-inflammatory cytokines包括: TNF- α 、interleukin-6 (IL-6)、interleukin-12 (IL-12)、interferon-gamma (IFN- γ)。本計畫欲測定之anti-inflammatory cytokines則為interleukin-10 (IL-10)。

本計畫之第二部分，將探討病人由抗結核藥物性肝傷害恢復後，臨床醫師如何安全而快速的重新使用上標準抗結核處方。此問題目前仍無共識。1998年英國胸腔醫學會²²的指引建議由每種藥物之小量劑量逐漸加量和加藥，但相當耗費時間，病患並無法得到足夠的藥物濃度及種類，可能會繼續散佈結核菌。1999年歐洲呼吸醫學會(European respiratory society)²³則建議直接給予標準劑量，較近期(2006)美國胸腔醫學會(American thoracic Society)²⁴的指引建議逐一加藥，但並不特別建議小量劑量逐漸加量和加藥。然而，不論英國、歐洲或美國胸腔醫學會的建議，都來自於觀察性研究，迄今仍無隨機分派 control study 加以證實。

因此，為了回答這個問題，本計劃的第二部份，針對結核病治療過程中發生肝炎者，隨機分派接受小量劑量逐漸加量和加藥(Slow challenge group)或直接給予每種藥物之標準劑量後逐一加藥(Rapid challenge group)，比較兩種方法重新使用上標準抗結核處方所需的時間及肝炎的復發率之差異，以了解抗結核藥物治療過程中，一旦發生肝炎，如何在最短的時間內，重新啟動標準治療，並了解重新抗結核治療時，肝炎的復發率，若能以最短且安全的加藥流程重新治療，將可以縮短結核病人具有傳染力的時間。

本計畫之第三部分，將探討肝硬化病患(Child A 或 B 或 C)，直接使用肝炎發生率低的抗結核藥二線處方之可行性。第一線抗結核藥物 Isoniazid (INH)、Rifampin (RMP)與

Pyrazinamide (PZA)最為人所熟知的副作用就是肝毒性。肝硬化的病人在接受第一線抗結核藥治療時，約有 67%會產生肝功能異常，其中有六成的病患須改用二線處方，有些病人甚至沒有機會嘗試二線藥就因為肝衰竭與其他併發症而過世。考量到肝硬化患者其本身存活期(life span)偏短與肝功能(hepatic reserve)極差，是否在治療這類結核病患的時候能夠選擇肝毒性較小的藥物(縱使是二線藥)，在病人安全與順利完治的基礎之上，減少再嘗試所花費的時間、降低病患肝衰竭的風險。因此本計畫之第三部分是想要探討針對肝硬化(Child A 或 B 或 C)之結核病患使用肝炎發生率較低的抗結核二線藥(Moxifloxacin 與 Kanamycin)，結合一線藥(Rifampin 與 Ethambutol)處方之治療成效。

參、材料與方法及進行步驟

[研究方法]:

[第一部分: 抗結核藥物肝傷害之生物標記]

[設計]: 前瞻性觀察研究

[機構]: 臺大醫院、台南胸腔病院、馬偕紀念醫院

[計畫執行期間]: 一年 (2011 – 2011)

[對象]:

1. 經培養或組織切片確診為結核病之病人
2. 健康接觸者
2. 年齡 ≥ 18 歲
3. HIV抗體陰性

[藥物性肝傷害的定義] [11]:

1. 治療前肝功能不論正不正常，治療後無論有無肝炎症狀，只要肝功能上升至 $>$ 治療前值之2倍，即稱為responder，亦即假設為有藥物性肝傷害。
2. 治療後若肝功能上升 $<$ 治療前值之1.5倍，即稱為nonresponder，亦即假設為沒有藥物性肝傷害。
3. 治療後若肝功能上升至介於1.5與2倍之間，則稱為intermediate responder。

[研究流程]:

1. 結核病病人或健康接觸者若符合收案條件，並同意加入計畫，則在開始治療前先抽血檢測肝功能(AST、ALT、bilirubin total and direct)、腎功能、HBsAg、anti-HCV、空腹血糖、plasma TNF- α 、plasma IL-6、plasma IL-12、plasma IFN-及 plasma IL-10，並由白血球抽取DNA及RNA，以便執行PXR、CYP1A2基因之genotype study。
2. 病人在開始治療後二週、四週、六週、八週各抽一次空腹血，測定AST、ALT、bilirubin total and direct、plasma cytokines。
3. 開始治療後第九週，若ALT仍不正常($>$ 正常值上限)，則每二週各抽一次空腹血，測定AST、ALT、bilirubin total and direct、plasma cytokines，直到ALT回復正常。
4. 比較肝功能、cytokines、PXR、CYP1A2基因之genotype，以找出抗結核藥物性肝傷害之生物標記。

[實驗室工作]：

(1) Pharmacogenomic study:

- a) Pregnane X receptor (PXR) gene之genotype [21]: (此gene之expression會被 rifampicin induce，我們希望觀察此gene之genotype與rifampicin造成的肝傷害有無關係。

Oligonucleotides for PXR Genotyping:

Exon 1a (F: 5´-TCA AGT GCT GGA CTT GGG AC-3´; R: 5´-CCC ACT ATG ATG CTG ACC TC-3´; 460 bp), Exon 1b (F: 5´-CAC ATA CAA CCA GCT CCC TG-3´; R: 5´-CCA CAT GCA GGC AAG ACT C; 345 bp), Exon 2 (F: 5´-CTG AGG CCT CTA CAC ATC-3´; R: 5´-AGG CCC TGA GAT GTT ACC-3´; 345 bp), Exon 3 (F: 5´-CTG GGA CGC AAA GGC TAG TG-3´; R: CCT GTT GCA CAC GGA CAC-3´; 417 bp), Exon 4 (F: 5´-TAA CGG CTT CTG CTG CCT TG-3´; R: 5´-AGC TCT CCA AAT CTA CCC TC-3´; 423 bp), Exon 5 (F: 5´-CTG AGT TGG GAC CTG TCT-3´; R: 5´-CCA GGC CCT TTG AAC CTC-3´; 415 bp), Exon 6 and 7 (F: 5´-CTG CTG GTG CCG GCC TGT-3´; R: 5´-GAC TGG GAC CTT CCC TGG-3´; 598 bp), Exon 8 (F: 5´-GAG CAA TGC CCT GAC TCT-3´; R: 5´-CCC TCT GGC CAT GAA GTC-3´; 271 bp), Exon 9 (F: 5´-TGC TTG TGC AGC CTC AGA-3´; R: 5´-GCT CTT GGC AGT GTC CAT-3´; 324 bp).

PCR amplification and sequencing:

Genomic DNA (20–60 ng) was added to a reaction mix containing 1 to 2.25 mM MgCl₂, 0.25 µM each oligonucleotide, 200 µM dNTPs, and 1 U of *Taq* polymerase (QIAGEN).

PCR conditions were one cycle at 94°C for 2 min, 34 cycles at 94°C for 40 sec, 57°C to 60°C for 45 sec, and 72°C for 60 sec, and a final cycle of 72°C for 5 min.

PCR products were purified using a QIAquick PCR purification kit (QIAGEN) and directly sequenced. Sequencing reactions were determined using PE Biosystems' capillary 3700 DNA Analyzers (Foster City, CA). All genotypes resulting in amino acid exchanges were confirmed by independent PCR followed by sequencing.

- b) CYP1A2 gene polymorphism [15a]: CYP1A2 gene 與estrogen之metabolism有密切的關係，由於我們在過去數年的研究中發現，我國女性發生抗結核藥物肝傷害之風險為男性之2倍，因此我們假設抗結核藥物肝傷害之發生與此基因有關。

我們將研究6個polymorphic sites: -3858G→A、-2464T→T deletion、-740T→G、-164A→C、63C→G、1545T→C，方法是PCR + sequencing，參照reference 15a。

2) Cytokine study [18]:

Proinflammatory (TNF- α 、IL-6、IL-12、IFN- γ) and anti-inflammatory cytokine (IL-10) 的測定都使用ELISA kit。

[本年預定執行之工作]:

- 1) 收結核病病人70人，其中有抗結核藥物肝傷患者預計有20至25人，健康接觸者30人。
- 2) 由過去4年內，收於 database 中之結核病病人，預計找出100位病人之血液。
- 3) 作所有收案病人及健康接觸者之pharmacogenomic、cytokine study。
- 4) Pharmacogenomic study中，觀察pregnane X receptor及CYP1A2 genotype 與抗結核藥物肝傷害(尤其是rifampicin related 肝傷害)是否有關。
- 5) Cytokine study中，觀察proinflammatory (TNF- α 、IL-6、IL-12、IFN- γ) and anti-inflammatory cytokine (IL-10) 與抗結核藥物肝傷害(尤其是pyrazinamide related 肝傷害)是否有關。

[第二部分:對於結核病治療過程中發生肝炎患者，重新給予標準抗結核處方時，比較不同加藥流程之成效]

[流程簡述]:

針對確診為肺結核、於治療過程中產生肝炎的患者，符合受試條件、不具有排除條件，經過詳細說明填妥同意書後，停止所有肺結核藥物，並每週兩次進行肝功能檢測，直至肝功能回復至正常值的兩倍以內，則進行隨機分組，其中一組接受由低劑量至高劑量(Slow challenge group)，按照Isoniazid → Rifampicin → Pyrazinamide的順序，逐一加藥，另一組直接給予每種藥物之標準劑量(Slow challenge group)，並按照Isoniazid → Rifampicin → Pyrazinamide的順序，逐一加藥。

[受試條件]:

1. 於結核病治療過程中，發生肝炎
2. 發生肝炎後，在重新給予標準抗結核處方前，需全部停止Isoniazid (敵勞尅星片)，Rifampicin (立復黴素) 及 Pyrazinamide(敵癆新邁錠)，直至肝功能1回復至正常值的兩倍以內
3. 年紀大於或等於 18 歲。
4. HIV 血清學檢測為陰性。
5. 膽紅素不超過 2.5 mg/dL。
6. 不曾有Isoniazid或Rifampin或Pyrazinamide的過敏反應。

[排除條件]：

1. 屬於 Child 分類 B 級或 C 級的肝硬化病患
2. 目前懷孕或授乳
3. 預期存活不超過一年

研究樣本數：我們計畫收集 100 人，每組各 50 人。

[試驗流程]：

1. 每位受試者在一開始進行肝臟超音波檢查、採血檢驗所有血球數、以及各項肝功能指數 (GOT、GPT、ALP、GGT、bilirubin)、過敏指數(Eosinophil count、IgE)、病毒性肝炎指標(IgM anti-HAV, Anti-HBsAg, HBsAg, Anti-HBc IgG and IgM, HBeAg, Anti-HBe and Anti-HCV)、B、C型肝炎陽性者進行病毒性肝炎病毒量檢測(HCV RNA and HBV DNA)
2. 每週兩次肝功能檢測，直至肝功能回復至正常值的兩倍以內
3. 隨機分為兩組，按照兩種逐一加藥的流程，重新開始治療

◆ **標準加藥組**

第 1-3 天：Isoniazid (敵勞尅星片) 5 mg/kg。

第 4-6 天：Isoniazid (敵勞尅星片)5 mg/kg + Rifampicin (立復黴素) 10mg/kg。

第 7 天開始：Isoniazid (敵勞尅星片)5 mg/kg + Rifampicin (立復黴素) 10mg/kg +Pyrazinamide(敵癆新邁錠) 20 mg/kg。

◆ **緩慢加藥組**

第 1 天：Isoniazid (敵勞尅星片) 100 mg/day。

第 2 天：Isoniazid (敵勞尅星片) 200 mg/day。

第 3-5 天：Isoniazid (敵勞尅星片) 5mg/kg。

第 6 天：Isoniazid (敵勞尅星片) 5mg/kg + Rifampicin (立復黴素) 150mg。

第 7 天：Isoniazid (敵勞尅星片) 5mg/kg + Rifampicin (立復黴素) 300mg。

第 8-10 天：Isoniazid (敵勞尅星片) 5mg/kg + Rifampicin (立復黴素) 10mg/kg。

第 11 天：Isoniazid (敵勞尅星片) 5mg/kg + Rifampicin (立復黴素) 10mg/kg+ Pyrazinamide(敵癆新邁錠) 250 mg。

第 12 天：Isoniazid (敵勞尅星片) 5mg/kg + Rifampicin (立復黴素) 10mg/kg+ Pyrazinamide(敵癆新邁錠) 500 mg。

第 13 天開始：Isoniazid (敵勞尅星片) 5mg/kg + Rifampicin (立復黴素) 10mg/kg + Pyrazinamide(敵癆新邁錠) 20 mg/Kg。

4. 追蹤項目：每週兩次肝功能檢測，直到重新使用上標準抗結核處方

5. 若再次產生肝炎（加藥之後肝功能上升兩倍以上），則停止該藥物，待肝功能回覆後，使用其他藥物繼續治療

[第三部分：肝硬化病患結核病二線抗結核藥治療處方探討]

[研究對象]－本試驗為前瞻性病例對照研究設計 (Prospective Case Control Study)，選定罹患臨床、實驗室診斷或細菌學確診結核病合併 Child A 或 B 或 C 肝硬化的患者。排除年齡小於 18 歲、孕婦、精神病患者、腎功能不全(血清肌酐酸大於 3.0 mg/dL)與對處方藥物過敏者。病患經簽署受試者同意書後加入。本年預計收案 32 名結核病人。

[研究流程]

1. 每位受試者接受完整的抗結核藥物治療，標準試驗處方如下：
Moxifloxacin (Mfx) + Rifampin (RMP) + Ethambutol (EMB) + Kanamycin (KM)
二個月
再加 Mfx + RMP + EMB 七個月
2. 如遇治療中產生肝毒性(其定義為肝功能高於正常五倍，肝功能高於正常三倍合併胃口變差、肝脾腫大，黃疸指數大於 3)之情形，先暫停 Rifampicin，待肝功能回復後嘗試以 Rifabutin(RBT)代替 RMP。若肝炎不再發生，則在整個療程之中使用 RBT 滿九個月。若再次發生肝毒性，則暫停 RBT 至肝功能回復，之後以 Cycloserine 取代 RBT，施以 12~18 個月之療程。
3. 每位受試者在治療前應該先有基礎肝功能的檢查(含腹部超音波、血清 GOT/GPT、黃疸指數、白蛋白、凝血功能與肝腦病變之評估)，並綜合上述資訊給予肝硬化嚴重度分級(Child-Pugh Classification)。若病患為 B 型肝炎帶原者，則加驗 HBV DNA 與 HBV Viral Load。
4. 受試者於開始治療後第一個月每週各抽血一次，予以檢驗 total bilirubin、GOT、GPT、Prothrombin time (PT)、BUN、Creatinine。第二個月每兩週各抽血一次，檢驗項目同前。第三個月起每月至少抽血一次，並視情況決定是否增加抽血頻率。
5. 每位受試者於治療期間第 0、1、2、6 個月及完治時追蹤胸部 X 光檢查。完治後每 6 個月接受胸部 X 光檢查，直到追蹤滿兩年為止。
6. 每位受試者在痰液培養陰轉之前應每月做痰液塗片與培養之檢查，痰液培養陰轉之後於治療起第 2、5 個月及完治時做痰液塗片與培養之檢查。完治之後每 6 個月接受痰液塗片與培養之檢查，直到追蹤滿兩年為止。
7. 每個月訪視受試者有否結核病相關症狀。
8. 若受試者追蹤有新發現之活動性肺結核者，將予告知請其進一步檢查治療。

[資料分析]

1. 分析患者接受試驗處方後肝炎的發生率、嚴重程度與併發症。
2. 分析試驗處方每個月達成塗片陰轉與培養陰轉的百分比。
3. 分析本試驗處方達成完治的比例以及處方治療失敗的比例。
4. 追蹤患者結核病復發的比例與復發後菌株的抗藥性。

肆、結果

[第一部分: 抗結核藥物肝傷害之生物標記]

本計畫由 2011 年 3 月 1 日起，截至 2011 年 10 月 10 日為止，共收案 65 位結核病患者。其中男性 38 位 (59%)，女性 27 位 (41%)。男性平均年齡為 66.4 ± 18.2 歲(範圍：22 至 91 歲)。女性平均年齡為 48.5 ± 19.2 歲(範圍 18 至 84 歲)。我們依照研究計劃，在抗結核治療開始前，及開始後每隔 2 週，抽血檢測肝功能。

在追蹤當中，發生治療中肝炎者共有 17 人(26%)，其中男性發生治療中肝炎者有 9 人 (23.7%)，女性發生治療中肝炎者有 8 人 (29.6%)。男性發生治療中肝炎者，其肝指數 ALT 上升之最大值介於正常值上限之 1.9 至 36 倍之間，中位值是 4.1 倍。女性發生治療中肝炎者，其肝指數 ALT 上升之最大值介於正常值上限之 1.9 至 11.4 倍之間，中位值是 2.7 倍。

我們亦由過去四年加入本院結核病資料庫的病人中，找出 81 位病人，作與藥物性肝傷害有關之 pregnane 基因之 SNP 研究。至於細胞激素這部分，目前僅完成 8 位病人之研究，仍在積極進行中。由於本年計畫開始時間甚晚(實際上可執行時已是 4 月中、下旬)，到目前為止，有關藥物性肝傷害基因的單核苷酸多型性(single nucleotide polymorphism, SNP)研究以及細胞激素定量研究均尚未完成。

[81 位結核病病人 pregnane 基因之 SNP 研究初步結果如下]:

此 81 位病人平均年齡為 56.4 歲。其中男性 56 位(69%)，平均年齡 61.9 歲(範圍：19 至 91 歲)。女性 25 位，平均年齡 49.0 歲(範圍：18 至 86 歲)。

表一 81 位結核病病人 Pregnane 基因 SNP 之分布

Primer	allele	有發生藥物性肝炎人數	無藥物性肝炎人數	總人數	p 值
62579	AG	9	32	41	0.519
	GG	2	22	24	
	AA	3	13	16	
62581	GG	14	67	81	
	GA	0	0	0	
	AA	0	0	0	
62585	CC	16	60	76	0.609
	TT	1	4	5	
62586	TT	14	67	81	
	CT	0	0	0	
	CC	0	0	0	

由於病例數目不太多，目前還看不出 pregnane 基因之 SNP 與抗結核藥物性肝炎之間的關係，但我們仍在繼續研究中。

CYP1A1 基因型的研究

CYP1A1 是 cytochrome P450 system 之中的一種酵素，與雌激素(estrogen 即 E1, estradiol 即 E2)之代謝有重要相關。由於在前三年的研究中，我們發現了我國女性發生抗結核藥物性肝炎之風險，是男性的兩倍，因此我們在今年開始研究，CYP1A1 基因之多型性與抗結核藥物性肝炎之間的關係。

我們在今年中，共對 134 位結核病人作了 CYP1A1 基因之多型性研究，結果請看表二。

表二 CYP1A1 基因之多型性與抗結核藥物性肝炎之間的關係

RS4646903 CYP1A1 allele	No. of patients	No. (%) with drug-induced hepatitis	p value
TC	70	20 (28.6)	0.113
TT	47	5 (10.6)	
CC	17	2 (11.8)	

CYP1A1 基因之基因型為 TC 者，發生抗結核藥物性肝炎之風險似乎較高，雖然目前在統計學上尚無意義，我們將作更多病例研究，希望能得到更正確的結果。

[8 位發生抗結核藥物性肝炎病人血漿中細胞激素之濃度]:

我們檢測 8 位發生抗結核藥物性肝炎病人血漿中細胞激素之濃度，包括 IL-10、IL-6、IL-17、INF- γ 、monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)、TNF- α 等，並與肝指數 ALT 比對，發現:

- ◆ IL-10、MCP-1、TNF- α 之上升與 ALT 之上升大致平行；
- ◆ IL-17 之上升與 ALT 之上升有時有、有時無平行關係；
- ◆ IL-6、INF- γ 之上升與 ALT 之上升較無關係；

目前我們仍在繼續從事此研究，希望能得到更正確的結論。

[第二部分: 對於結核病治療過程中發生肝炎患者，重新給予標準抗結核處方時，比較不同加藥流程之成效]

從 2011 年 4 月至 2011 年 10 月，每日篩檢於研究機構檢測肝功能的病患，發現共有 3642 人次抽血檢測肝功能，其中 GOT/GPT 異常者共有 145 人(4%)，符合收案及排除條件後，共有 82 位納入研究，然而，43 位病患因為抗藥性肺結核，22 位病患拒絕簽署同意書，故符合收案條件者共有 18 個 case (12%) (如表一)，其中一位於重新給藥前，中途撤除同意書，故共有 17 位納入分析。

經過隨機分派，9 位(53%)分配於標準加藥組，8 位(47%)分配於緩慢加藥組，其基本資料如表一所示。17 個 case 的年齡分佈在 74 (± 22.4) 範圍內、體重平均分佈於 47.7 (± 10.8) 範圍內，共有 1 位 case(5.88%)為 chronic HBV infection、5 位 cases(29.4%)為 chronic HCV infection、1 名病患(5.88%)有輕微肝硬化、4 位病患(23.52%)同時為糖尿病患者；其男、女性別分別各佔 52.94%和 47.06%。標準加藥組 9 個 cases 中，年齡為 74 \pm 24.9 歲，體重 41.9 \pm 12.3 kg，先前發生肝炎的 GOT 於 195 \pm 136.3 間，GOT 於 192 \pm 288.6 間，T-bilirubin 於 0.7 \pm 1.3 間；另外 8 個屬於緩慢加藥組，他們年齡分佈在 65.5 \pm 20.8 歲間，體重 50.7 \pm 9.4 kg 間，先前發生肝炎的 GOT 於 194.5 \pm 308.2 之間，GOT 於 110.5 \pm 220.3 之間，T-bilirubin 於 3.9 \pm 6.3 間

這 17 個 cases 於發生肝炎時，其血清學皆無急性 A 型肝炎(Anti-HAV IgG: negative) 和急性 B 型肝炎(Anti-HBc IgM: negative)之證據，也沒有自體免疫的病史。從 TB 治療日到肝炎發生時間介於 46 ± 25 天，而其發生肝炎時的 GOT、GPT、T-bilirubin 於兩組之間並無差別(表一)。

重新給 INH+RMP

整體來說(表二)，重新給予 INH+RMP 成功有 11 位 (64.7%)，重新給予 INH+RMP 失敗的 cases 有 6 位(35.3%) (表二)。於標準加藥組 9 名病患中，6 位上藥成功(66.7%)，而於緩慢加藥組 8 名病患中，亦有 5 位上藥成功(62.5%)。標準加藥患者中，1 位因為 INH re-challenge，而肝炎復發，1 位因為 RMP 引起 Skin rash 而停藥，1 位因為突發性心律不整而停藥，緩慢加藥組患者中，有 3 位因為 RMP re-challenge 而引起黃疸而停止重新給藥。

重新給 PZA

對標準加藥組而言(表三)，9 個 case 中，因 3 位患者於 re-challenge INH 及 RMP 時停止 re-challenge，先前發生肝炎的發炎指數 GOT/GPT $> 8 X$ 以上的有 3 個 case，所以只有 3 個 cases 有再 re-challenge PZA。結果，僅 1 位(33.3%)患者上藥成功，2 位患者上藥 (66.7%)因 PZA 引發肝炎而上藥失敗(表三)。

緩慢加藥組中，8 個 case 中，因 3 位患者於 re-challenge INH 及 RMP 時停止 re-challenge，先前發生肝炎的發炎指數 GOT/GPT $> 8 X$ 以上的有 1 個 case，黃疸有 1 位而無法再給 PZA，所以只有 3 個 cases 有再 re-challenge PZA。上藥成功指僅有 1 位 (33.3%)，上藥失敗有 2 位(66.7%)，其中因 PZA 引發肝炎而停藥的有 1 位、PZA 引發黃疸有 1 位(表三)。

INH、RMP、PZA re-challenge 之 outcome

INH、RMP、PZA 這三種抗結核藥物，皆可能會導致副作用而中斷重新給藥。表四顯示：在 17 個重新上 INH 的 cases 中，INH 引起肝炎，導致重新上藥失敗的有 1 個 (5.9%)；在 17 個重新上 RMP 的 cases 中，RMP 導致重新上藥失敗的有 4 個(23.5%) (RMP 引起黃疸有 3 個，皮疹 1 個)；在 6 個重新上 PZA 的 cases 中 PZA 導致重新上藥失敗的也有 4 個 (66.7%) (肝炎復發者有 3 個，引起黃疸有 1 個)。

慢性肝炎及上藥成功率

17 位病患中，僅一位為 HBV carrier，且為 HBeAg(+)，其 HBV DNA= 2.02×10^5 IU/ml ($> 1 \times 10^5$ IU/ml 為 high titer)，該患者發生肝炎後，開始接受抗 B 型肝炎藥物治療，同時成功 rechallenge INH 及 RMP。因肝發炎指數 > 8 倍，並沒有再 rechallenge PZA，無法判斷肝炎是因為 PZA 引起，或是 HBV virus flare-up 引起。

表五顯示，17 位病患中，有 5 位(29.4%)患者為 Chronic HCV infection 患者，其中 4 位為 low titer，1 位為 high titer ($> 2 \times 10^5$ IU/ml)。5 位患者中，有 3 位隨機分配標準加藥組，有 2 位分配於緩慢加藥組。緩慢加藥組中，有一位患者(50%)於 RMP rechalleng 時

發生 Jaundice 而 rechallenge 失敗，其餘 4 位患者成功 rechallenge INH+RMP。這 4 位患者中，有 2 位因為嚴重肝炎剛恢復(一位為黃疸，一位為 GOT/GPT>8*UNL)而沒有接受 PZA rechallenge。其餘 2 位患者，都接受標準加藥組的 PZA rechallenge，然而，全部 2 位患者(100%)，皆因 PZA 再次引發肝炎而中止重新給藥。

同時，因為 cases number 過少，並無法判斷 HBV 或 HCV infection 的患者，採用標準加藥組或緩慢加藥組之優劣。

表一 研究個案之基本資料

組別	All	標準加藥組	緩慢加藥組	P value
Case No.	17	9	8	-
Age, years	74 ± 22.4	74 ± 24.9	65.5 ± 20.8	0.789
Gender				0.637
Male	9 (52.94%)	4 (44.44%)	5 (62.5%)	
Female	8 (47.06%)	5 (55.56%)	3 (37.5%)	-
體重, kg	47.7 (± 10.8)	41.9 ± 12.3	50.7 ± 9.4	0.579
原住民				0.471
原住民	1 (5.88%)	0 (0%)	1 (12.5%)	
非原住民	16 (94.12%)	9 (100%)	7 (87.5%)	-
國籍				1.00
本國	16 (94.12%)	8 (88.9%)	8 (100%)	
外籍	1 (5.88%)	1 (11.1%)	0 (0%)	-
生活習慣				
Smoking	8(47.06%)	4 (44.44%)	4 (50%)	1.00
喝酒	4(23.53%)	1 (11.11%)	3 (37.5%)	0.294
慢性疾病				
糖尿病	4 (23.52%)	3 (33.33%)	1 (12.5%)	0.576
肝硬化	1 (5.88%)	0 (0%)	1 (12.5%)	0.471
慢性腎衰竭	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
自體免疫疾病	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
惡性腫瘤	2 (11.76%)	1 (11.11%)	0 (0%)	0.471
HBV infection	1 (5.88%)	1 (11.11%)	0 (0%)	0.362

HCV infection	5 (29.4 %)	3 (33.33%)	2 (25 %)	1.00
TB 分類				
新案	14 (82.35 %)	6 (66.67 %)	8 (100 %)	-
重開	3 (17.65 %)	3 (33.33 %)	0 (0%)	1.00
TB 發生位置				
單純肺內	16 (94.12 %)	9 (100 %)	7 (87.5 %)	-
肺內+肺外	1 (5.88 %)	0 (0%)	1 (14.29%)	-
痰塗片 (AFS)				
Positive	12 (70.59 %)	6 (66.67 %)	6 (75 %)	-
Negative	5 (29.41 %)	3 (33.33 %)	2 (25 %)	-
TB 培養陽性				
抗藥性(任一種一線藥)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	-
加入直接觀察短期治療法(DOTS)	17 (100 %)	9 (100 %)	8 (100 %)	-
肝炎發生前之治療				
TB 治療包含 INH	17 (100%)	9 (100%)	8 (100%)	-
INH 使用時間,days	52 ± 27	52 ± 29	53 ± 27	0.801
TB 治療包含 RMP	17 (100%)	9 (100%)	8 (100%)	-
RMP 使用時間,days	52 ± 27	52 ± 29	53 ± 27	0.808
TB 治療包含 PZA	17 (100%)	9 (100%)	8 (0%)	-
PZA 使用時間,days	52 ± 30	52 ± 29	42 ± 32	0.849
TB 治療包含 EMB	17 (100%)	9 (100%)	8 (100%)	-
EMB 使用時間,days	52 ± 27	52 ± 29	52 ± 27	0.815
TB 治療開始至肝炎發生時間, days	52 ± 27	52 ± 29	53 ± 28	0.774

肝炎發生時				
肝炎發生時之 GOT	195.0 ±226.5	195 ± 136.3	194.5 ± 308.2	0.720
最高 GOT	195 ± 273.1	195 ± 202.2	194.5 ± 351.8	0.988
肝炎發生時之 GPT	183.0 ±254.9	192 ± 288.6	110.5 ± 220.3	0.493
最高 GPT	192 ± 337.3	210 ± 389.4	110.5 ± 256.2	0.268
肝炎發生時之 T-Bilirubin	1.2 ±5.2	0.7 ±1.3	3.9 ± 6.3	0.172
最高 T-Bilirubin	1.4 ± 4.2	0.6 ± 0.5	2.5 ± 5.1	0.258
肝炎到停藥時間, days	1±3	1 ± 3	1 ± 3	0.875
Anti- HAV IgM (+)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	-
Anti-HBc IgM (+)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	-
HBsAg (+)	1 (5.88%)	1 (11.11%)	0 (0%)	1.000
HBeAg (+)	1 (5.88 %)	1 (11.11%)	0 (0%)	1.000
HBV DNA (+)	1 (5.88%)	1 (11.11%)	0 (0%)	1.000
Anti-HCV (+)	5 (35.29 %)	4 (44.44 %)	2 (25 %)	0.434
HCV RNA (+)	5 (29.4 %)	3 (33.33%)	2 (25 %)	1.00
Anti-HIV (+)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-

表二 重新給(re-challenge) INH 及 RMP 之結果

組別	All	標準加藥組	緩慢加藥組	P value
No. at risk	17	9	8	
GOT at Day0 of rechallenge	52.0 ± 22.9	39.0± 25.7	54.5± 20.4	0.563
GPT at Day0 of rechallenge	57.0 ± 43.0	78.0± 41.6	50.5±45.6	0.445
T-Bilirubin at Day0 of rechallenge	0.6 ± 0.8	0.6 ± 0.3	1.1 ± 0.9	0.073
Outcome				1.000
重新給 INH+RMP 成功	11 (64.7%)	6 (66.7 %)	5 (62.5%)	-
重新給 INH+RMP 失敗	6 (35.3 %)	3 (33.3 %)	3 (37.5%)	-
肝炎復發導致失敗	1 (5.9%)	1 (11.1%)	0 (0%)	1.000
INH 引起肝炎復發	1 (5.9%)	1 (11.1%)	0 (0%)	-
RMP 引起肝炎復發	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
黃疸復發導致失敗	3 (17.6%)	0 (0%)	3 (37.5%)	0.082
INH 引起黃疸	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
RMP 引起黃疸	3(17.6%)	0 (0%)	3 (37.5%)	-
Re-challenge 時發生 Skin rash 導致失敗	1 (5.9%)	1 (11.1%)	0 (0%)	1.000
INH	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
RMP	1 (5.9%)	1 (11.1%)	0 (0%)	-
Other				
Arrhythmia, unknown cause	1 (5.9%)	1 (11.1%)	0 (0%)	1.000

表三 重新給 PZA 之結果

組別	All	標準加藥組	緩慢加藥組	P value
No. at risk	17	9	8	
未重新給 PZA	11(64.7%)	6(66.7%)	5(62.5%)	1.00
重新給 INH+RMP 失敗	6(35.3%)	3(33.3%)	3(37.5%)	-
嚴重肝炎	4(23.5%)	3(33.3%)	1(12.5%)	-
黃疸	1(5.8%)	0(0%)	1(12.5%)	-
重新給 PZA	6(35.2%)	3(33.3%)	3(27.5%)	-
重新給 PZA 成功	2(33.3%)	1(33.3%)	1(33.3%)	1.00
重新給 PZA 失敗	4(66.7%)	2(66.7%)	2(66.7%)	-
PZA 引起肝炎	3(50%)	2(66.7%)	1(33.3%)	-
PZA 引起黃疸	1(16.7%)	0(0%)	1(33.3%)	-

表四 rechallenge 失敗和 INH, RMP, PZA 之相關性

組別	All	標準加藥組	緩慢加藥組	p-value
接受 INH re-challenge				
No. at risk	17	9	8	
INH 導致上藥失敗	1(5.8%)	1 (11.1%)	0(0%)	1.000
肝炎	1(5.8%)	1 (11.1%)	0(0%)	-
黃疸	0(0%)	0(0%)	0(0%)	-
接受 RMP re-challenge				
No. at risk	17	9	8	
RMP 導致上藥失敗	4(23.5%)	1 (11.1%)	3 (37.5 %)	0.576
肝炎	0	0(0%)	0(0%)	-
黃疸	3(17.6%)	0 (0%)	3 (37.5 %)	-
皮疹	1(5.8%)	1 (11.1 %)	0 (0%)	-
接受 PZA re-challenge				
No. at risk	6	3	3	
PZA 導致上藥失敗	4(66.7%)	2 (40%)	2 (40%)	1.000
PZA 引起肝炎	3(50%)	2(66.7%)	1(33.3%)	-
PZA 引起黃疸	1(16.7%)	0(0%)	1(33.3%)	-

表五 慢性 C 型肝炎及上藥成功率

	All	標準加藥組	緩慢加藥組	p-value
Rechallenge INH+RMP				
No. at risk	5	3	2	
Re-challenge INH+RMP 成功	4 (80%)	3(100%)	1(50%)	0.40
Re-challenge INH+RMP 失敗	1(20%)	0(0%)	1(50%)	-
肝炎復發導致失敗	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
黃疸復發導致失敗	1 (20%)	0 (0%)	1 (50%)	-
INH 引起黃疸	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
RMP 引起黃疸	1(20%)	0 (0%)	1 (50%)	-
Rechallenge PZA				
未重新給 PZA	3(60%)	1(33.3%)	2(100%)	1.00
重新給 INH+RMP 失敗	1(20%)	0(0%)	1(50%)	-
未給 PZA 的原因				
嚴重肝炎	1(20%)	1(33.3%)	0(0%)	-
黃疸	1(20%)	0(0%)	1(50%)	-
重新給 PZA	2(40%)	2(66.7%)	0(0%)	-
Rechallenge PZA 成功	0 (0%)	0 (0%)	0 (-)	-
Rechallenge PZA 失敗	2(100%)	2(100%)	0 (-)	-
PZA 引起肝炎	2(100%)	2(100%)	0 (-)	-
PZA 引起黃疸	0 (0%)	0 (0%)	0 (-)	-

【第三部分：肝硬化病患結核病二線抗結核藥治療處方探討】

自 2011 年 10 月 26 日為止，累計收案共一例(Child B)，明顯低於目標數。

項目	人數	單位	備註
已收案人數	1	人	
死亡	14	人	含符合收案病情嚴重者 3 人
轉出	7	人	含符合收案但拒納入計畫者 2 人
TB 治癒	6	人	
改診斷	6	人	
仍在治療	75	人	含他院轉入診斷為肝硬化
總篩選個案人數	109	人	

於 2011/01/01~2011/10/26 總計篩選肝功能不佳病患人數：共 109 人；在追蹤期間死亡：共 14 人；轉出：共 7 人；改診斷：6 人；治癒：6 人。目前仍在繼續追蹤個案：75 人。許多慢性肝炎患者，在腹部超音波及肝功能檢查方面，與肝硬化病人存在相當程度重疊性，包括檢查者主觀意識判斷。尤其在未用抗結核藥物前，經常無法早期下肝硬化之診斷。且部分早期肝硬化病人，可能肝功能指數(AST/ALT)及膽紅素皆正常，當接受抗結核藥物治療後，肝功能惡化才表現出來。故除非早期作腹部超音波，否則不易診斷。本實驗預定收案條件為肝硬化病患，此族群病患依臨床經驗大部份無法承受一線抗結核藥物。故選擇此族群在於推測有明確臨床效益，惟因此導致收案條件嚴苛至收案數不足。

伍、討論

本研究計畫第一部份之結果顯示，我國結核病病人約有 26% 發生治療中肝炎(男性約 24%，女性約 30%)。治療中肝炎發生時，肝指數(ALT)之最高值在男性平均約為正常值上限之 4 倍，在女性平均約為正常值上限之 2.7 倍。

細胞激素中，IL-10、MCP-1 與 TNF- α 之上升與 ALT 之上升較有平行之關係，IL-6、IL-17 與 IFN- γ 之上升與 ALT 之上升較無平行之關係。

與抗結核藥物之代謝可能有關之基因研究中，pregnane 基因與 CYP1A1 基因之 SNP 究竟與抗結核藥物肝傷害之發生有無關係，目前因病例數目尚少，還難以斷定。CYP1A1 是 cytochrome P450 system 之中的一種酵素，與雌激素(estrogen 即 E1, estradiol 即 E2)之代謝有重要關係。由於在前三年之研究過程中，我們發現了我國女性發生抗結核藥物性肝炎之風險，是男性的兩倍，因此我們開始研究，CYP1A1 基因之多型性與抗結核藥物性肝炎之間的關係。結果顯示，CYP1A1 基因之基因型為 TC 者，發生抗結核藥物性肝炎之風險似乎較高，雖然目前在統計學上尚無意義，也還無法解釋女性發生抗結核藥物性肝炎風險較高之現象，我們仍將繼續研究。

因此，血中細胞激素之濃度，以及 pregnane 基因、CYP1A1 基因之 SNP 究竟能否成為抗結核藥物性肝傷害之生物標記，還需做更多病例之研究才能得到結論。

由於在接受 3、4 種抗結核藥物之病人尋找肝炎之 biomarkers，的確太複雜，不易找到有用的 biomarkers。以後若有機會，當嘗試在 LTBI 接受治療之族群中研究，只是該族群發生治療中肝炎之機率很低，較不容易收到足夠之案例。

本研究計畫第二部份之結果顯示，不論標準加藥組或緩慢加藥組，於肝炎恢復後，其重新用上 INH+RMP 的成功率都只有約 60-70%。17 名患者中，有 3 位因為 RMP re-challenge 而引起黃疸而停止重新給藥(17.6%)，1 位因為 INH re-challenge，肝炎復發而停止重新給藥(5.9%)，1 位因為 RMP 引起 Skin rash 而停藥(5.9%)，1 位因為突發性心律不整而停藥(5.9%)。此四位肝功能異常病患中，僅 1 位病患為 chronic HCV infection。在 5 位(29.4%)為 Chronic HCV infection 患者中，有 3 位隨機分配標準加藥組，有 2 位分配於緩慢加藥組，僅有一位緩慢加藥組中患者(20%)於 RMP rechalleng 時發生 Jaundice 而 rechallenge 失敗，其餘 4 位患者皆成功 rechallenge INH+RMP (80%)。顯然 Chronic HCV infection 並不會降低 INH-RIF rechallenge 的成功率。這種現象，不同於過去的研究(高達 90% 以上的患者仍然可以順利使用上標準抗結核處方²¹⁻²²)，人種之差異可能是最主要的因素。

少數病患接受 PZA 的 rechallenge，標準加藥組 9 個 case 中，因 3 位患者於 re-challenge INH 及 RMP 時停止 re-challenge，先前發生肝炎的發炎指數 GOT/GPT > 8 X 以上的有 3 個 case，所以只有 3 個 cases 有再 re-challenge PZA。結果，僅 1 位(33.3%)患者上藥成功，2 位患者 (66.7%)因 PZA 引發肝炎而上藥失敗(表三)。緩慢加藥組 8 個 case 中，因 3 位患者於 re-challenge INH 及 RMP 時停止 re-challenge，先前發生肝炎的發炎指數 GOT/GPT > 8 X 以上的有 1 個 case，黃疸有 1 位而無法再給 PZA，所以只有 3 個 cases 有再 re-challenge PZA。上藥成功指亦僅有 1 位(33.3%)，其中 1 位因 PZA 引發肝炎而停藥、另一位因 PZA 引發黃疸而停藥(表三)。6 位接受 PZA rechallenge 的病患，有 50% 病人證實為 PZA induced hepatitis，16.7% 為 PZA induced jaundice。共有兩位病患 (11.8%)，成功 rechallenge INH+RMP+PZA，其造成 hepatitis 的原因不明；另外 5 個病患，雖 rechallenge INH+RMP 成功，但並無 rechallenge PZA，並無法完全排除 PZA 引

起 hepatitis 之可能性。5 位(29.4%)患者為 Chronic HCV infection 患者，有一位患者(50%)於 RMP rechalleng 時發生 Jaundice 而 rechallenge 失敗，其餘 4 位患者成功 rechallenge INH+RMP。這 4 位患者中，有 2 位因為嚴重肝炎剛恢復(一位為黃疸，一位為 GOT/GPT>8*UNL)而沒有接受 PZA rechallenge。其餘 2 位患者，都接受標準加藥組的 PZA rechallenge，然而，全部 2 位患者(100%)，皆因 PZA 再次引發肝炎而中止重新給藥。因此，可以推論，5 位 HCV 患者中，有一位(20%)為 RMP induced jaundice，有兩位(40%)證實為 PZA induced hepatitis，但有兩位成功 rechallenge INH+RMP 但無 rechallenge PZA，並無法完全排除 PZA 引起 hepatitis 之可能性。整體而言，因為 PZA rechallenge 的成功率很低，不論是否有慢性肝炎，PZA 可能是造成 hepatitis 最主要的藥物。

本研究計畫第三部份之結果顯示:

1. 許多慢性肝炎患者，在腹部超音波及肝功能檢查方面，與肝硬化病人存在相當程度重疊性，甚至包括檢查者主觀意識之判斷。尤其在未用抗結核藥物之前，經常無法早期下肝硬化之診斷，致收案之困難。
2. 肝硬化之病患晚期常病情嚴重，併肝腎症候群等，致無法接受抗結核藥物治療，致即使收案卻仍無法順利完治。
3. 部分早期肝硬化病人，可能肝功能指數(AST/ALT)及膽紅素皆正常，當接受抗結核藥物治療後，肝功能惡化才表現出來。故除非早期作腹部超音波，否則不易診斷，照成收案困難。
4. 本實驗預定收案條件為肝硬化病患，此族群病患依過去臨床經驗大部份無法承受一線抗結核藥物。故選擇此族群病患在於推測有明確臨床效益，惟因此導致收案條件嚴苛至收案數不足。

陸、結論與建議

4. 我國結核病病人約有 26% 發生治療中肝炎。治療中肝炎發生時，血中 IL-10、MCP-1 與 TNF- α 之上升與 ALT 之上升較有平行之關係，IL-6、IL-17 與 IFN- γ 之上升與 ALT 之上升較無平行之關係。pregnane 與 CYP1A1 基因之 SNP 與抗結核藥物肝傷害之間有無關係，目前尚難以斷定。無論是細胞激素或藥物代謝基因，都需要做更多病例之研究。
5. 由於在接受 3、4 種抗結核藥物之病人尋找肝炎之 biomarkers，的確太複雜，不易找到有用的 biomarkers。以後若有機會，當嘗試在 LTBI 接受治療之族群中研究，只是該族群發生治療中肝炎之機率很低，較不容易收到足夠之案例。
6. 不論標準加藥組或緩慢加藥組，於肝炎恢復後，其重新用上第一線標準抗結核藥物的成功率可能相似。標準加藥組可縮短加藥所需耗費的時間，可能可以縮短結核病人具有傳染力的時間，但目前個案數太少，須更大型的研究來支持此一推論。
7. 在有肝硬化之結核病患者要進行臨床試驗相當困難，較不易收到符合收案條件之案例，目前亦正積極收案中。
8. 除積極與協同合作醫院署立台中醫院探討收案方式，亦期待將來持續尋求其他醫院合作共同收案，以達收案目標。
9. 本院於 100 年 1 月 1 日至 12 月 10 日為止，總共通報 TB 患者為 281 位，在主動篩選過程中，發現肝功能不佳者為 130 位，為了提高收案率，因此增加安排腹部超音波檢查。在此嚴密篩選下，已不易在原收案條件下增加收案數。
10. 部分早期肝硬化病人，可能肝功能指數(AST/ALT)及膽紅素皆正常，當接受抗結核藥物治療後，肝功能惡化才表現出來，故建議早期安排腹部超音波檢查。
11. 治療後肝功能異常者，需常規以腹部超音波篩檢慢性肝病。
12. 即便是符合收案條件，但常因病情嚴重而無法用藥，導致即使收案卻仍無法順利完治。
13. 肝硬化病患 (Child A to C) 有極高肝毒性風險，是否有必要經由一線藥物標準處方治療，徒增風險，有待進一步研究。且此族群案例不多，或許在擬定診治指引時，將選用部分二線藥之處方列入考慮。
14. 由於肝硬化合併結核病的臨床案例數未如預期，且根據本研究在篩選案例中，肝功能異常 GOT/GPT 五倍以上異常的患者共有 16 位；三倍以上異常患者有 5 位；黃疸指數異常但肝功能正常者有 19 位；其中在尚未服用抗結核藥物即肝功能異常者為 23 位。不符合肝硬化診斷病人中，因用藥後肝功能異常，經停藥-再試藥過程，仍無法使用一線藥，到最後仍須使用二線藥人數 9 例，超過 10%。爾後收案條件或可調整為未用藥前肝功能即已達到 AST/ALT 正常 5 倍以上、或黃疸指數明顯異常者，較能達到收案目標。

柒、計畫重要研究成果及具體建議

1. 我國結核病病人約有 26% 發生治療中肝炎。治療中肝炎發生時，血中 IL-10、MCP-1 與 TNF- α 之上升與 ALT 之上升較有平行之關係，IL-6、IL-17 與 IFN- γ 之上升與 ALT 之上升較無平行之關係。pregnane 與 CYP1A1 基因之 SNP 與抗結核藥物肝傷害之間有無關係，目前尚難以斷定。無論是細胞激素或藥物代謝基因，都需要做更多病例之研究。
2. 不論標準加藥組或緩慢加藥組，於肝炎恢復後，其重新用上第一線標準抗結核藥物的成功率相同。標準加藥組可縮短加藥所需耗費的時間，可能可以縮短結核病人具有傳染力的時間，但目前個案數太少，須更大型的研究來支持此一推論。
3. 對於治療後肝功能異常者，建議需常規以腹部超音波篩檢慢性肝病，而對肝硬化病患 (Child A to C) 有極高肝毒性風險，實無必要經由一線藥物標準處方治療，徒增風險。

捌、参考文献

1. Daly AK. Drug-induced liver injury: past, present and future. *Pharmacogenomics* 2010; 11(5): 607-611.
2. http://www.who.int/tb/country/global_tb_database/en/index.html
3. Black M, Mitchell JR, Zimmerman HJ, Ishak KG, Ipler GR. Isoniazid-associated hepatitis in 144 patients. *Gastroenterology* 1975;69:289-302.
4. Scheuer PJ, Summerfield JA, Lai S, Sherlock S. Rifampicin hepatitis. A clinical and histological study. *Lancet* 1974;1:421-5.
5. Pessayre D, Bentata M, Degott C, Nouel O, Miguet JP, Rueff B, Benhamou JP. Isoniazid-rifampicin fulminant hepatitis. A possible consequence of the enhancement of isoniazid hepatotoxicity by enzyme induction. *Gastroenterology* 1977;72:284-9.
6. Steel MA, Burk RF, DesPrez RM. Toxic hepatitis with isoniazid and rifampicin. A meta-analysis. *Chest* 1991;99:465-71.
7. Wang JY, Chen-Hua Liu, Fu-Chang Hu, Hsiu-Ching Chang, Jia-Luen Liu, Jong-Min Chen, Chong-Jen Yu, Li-Na Lee, Jia-Hong Kao, Pan-Chyr Yang. Risk Factors of Hepatitis during Anti-Tuberculous Treatment and Implications of Serum Viral Loads with Concomitant Chronic Viral Hepatitis. (Submitted)
8. Senior JR. Monitoring for hepatotoxicity: What is the predictive value of liver function tests? *Clin Pharmacol Ther* 2009;85(3):331-334.
9. O'Connell TM, Watkins PB. The application of metabonomics to predict drug-induced liver injury. *Clin Pharmacol Ther* 2010;38(3):394-399.
10. Amacher DE. The discovery and development of proteomic safety biomarkers for the detection of drug-induced liver toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010;245:134-142.
11. Winnike JH, Li Z, Wright FA, Macdonald JM, O'Connell TM, Watkins PB. Use of pharmaco-metabonomics for early prediction of acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 88(1):45-51.
12. Watkins PB. Biomarkers for the diagnosis and management of drug-induced liver injury. *Semin Liver Dis* 2009; 29: 393-399.
13. Kindmark A, Jawaid A, Harbron CG, Barratt BJ, Bengtsson OF, Andersson TB, et al. Genome-wide pharmacogenetic investigation of a hepatic adverse event without clinical signs of immunopathology suggests an underlying immune pathogenesis. *Pharmacogenomics J* 2008; 8: 186-195.
14. Olsson SB; Executive Steering Committee of the SPORTIF III Investigators. Stroke prevention with the oral direct thrombin inhibitor ximelagatran compared with warfarin in patients with non-valvular atrial fibrillation (SPORTIF III): randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 362(9397): 1691-1698.
15. Andrews E, Armstrong M, Tugwood J, Swan D, Glaves P, Pirmohamed M, Aithal GP, Wright MC, Day CP, Daly AK. A role for the preanane receptor X in flucloxacillin-induced liver injury. *Hepatology* 2010; 51(5): 1656-1664.
16. Sachse C, Bhambra U, Smith G et al. Polymorphisms in the cytochrome P450 CYP1A2 gene (CYP1A2) in colorectal cancer patients and controls: allele frequencies, linkage disequilibrium and influence on caffeine metabolism. *Br J Clin Pharmacol* 2003;55:68-76.
17. Watkins PB, Seligman PJ, Pears JS, Avigan MI, Senior JR. Using controlled clinical trials to learn more about acute drug-induced liver injury. *Hepatology* 2008;48(5): 1680-1689.
18. Clayton TA, Lindon JC, Cloarec O, Antti H, Charuel C, Hanton G, Provost JP, Le Net JL, Baker D, Walley RJ, Everett JR, Nicholson JK. Pharmaco-metabonomic phenotyping and personalized drug treatment. *Nature* 2006; 440;1073-1077.

19. Tilg H, Diehl AM. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *N Eng J Med* 2010; 343(20): 1467-1476.
20. Fannin RD et al. Acetaminophen dosing of humans results in blood transcriptome and metabolome changes consistent with impaired oxidative phosphorylation. *Hepatology* 2010; 51: 227-236.
21. Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse ME, de Lange WC, van der Ven AJ, Dekhuijzen R. Anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23(2):192-202.
22. Hustert E, Zibat A, Presecan-Siedel E, Eiselt R, Mueller R, Fuss C, Brehm I, Brinkmann U, Eichelbaum M, Wojnowski L, Burk O. Natural protein variants of preanane X receptor with altered transactivation activity toward CYP3A4. *Drug Metab Dispos* 2001; 29(11): 1454-1459.
23. Chemotherapy and management of tuberculosis in the United Kingdom: recommendations 1998. *Thorax* 1998;53:536-548.
24. Tuberculosis management in Europe. *Eur Respir J* 1999; 14: 978-992
25. An Official ATS Statement: Hepatotoxicity of anti-tuberculosis Therapy: *Am J Respir Crit Care Med* Vol 2006;174: 935–952.

子計畫編號：4-2
子計畫名稱：重度肺結核與複雜性多重抗藥性
肺結核之治療策略及影響臨床治
療成效因素
主 持 人：黃伊文

摘要

研究目的：探討重度肺結核與複雜性多重抗藥性肺結核病個案提早使用後線藥物治療策略的時間點，並評估臨床上的治療療效，提高治癒率。

研究方法：此研究分成兩部分

1) 重度肺結核：利用回溯性研究，蒐集 2006 年 1 月至 2007 年 12 月間花蓮佛教慈濟綜合醫院、台北市立萬芳醫院、行政院衛生署台中醫院、行政院衛生署彰化醫院與行政院衛生署胸腔病院等台灣地區北部、中部、南部與東部 5 家醫院，共收 800 名有效個案。依照胸部 x 光分類輕度者(minimal disease) 有 295 人，中度者(moderately advanced disease) 有 323 人，重度(far advanced disease) 有 182 人，針對臨床治療紀錄與檢驗等各項資料，運用多變量分析及存活分析方法，進行治療策略與關鍵因素分析。

2) 複雜性多重抗藥性結核病：從 MDR-TB 照護體系中（各團隊台北團隊、東區團隊、北區團隊、中區團隊、南區團隊），對 7 種以上抗結核病藥抗藥的患者或無足夠抗結核藥物可用而痰持續陽性者納入研究對象，以有使用包括第 5 類抗結核病藥品 Linezolid 為收案標準，以積極治療方式至痰陰轉 18 個月。評估使用第五類藥物痰檢體陰轉率及風險評估。

主要發現：

1) 重度肺結核：本研究發現罹病的嚴重度在個人基本資料方面與性別、教育程度、是否吸菸、是否喝酒、本身罹患糖尿病者呈高度相關，而教育程度、是否吸菸及 x 光片嚴重程度依然是影響其陰轉速度的主要原因。本次研究亦發現 PZA 是否延長使用均對痰液抹片陰轉天數、痰液培養陰轉天數、完治與否及是否於兩年內復發，兩組間皆無明顯差異。

2) 複雜性多重抗藥性結核病：九位收案個案中至 2011 年十月中仍有六位繼續在治療中，九位個案使用 Linezolid 後發生副作用的比例約為 66%，主要為輕到中度貧血、頭暈、血小板低下、視力模糊及手腳麻木的症狀。儘管如此，只有一位整個停用 Linezolid。本研究四位由陽轉陰的個案，陰轉時間平均約為 1.7 個月，這顯示即使是使用一天一次 600mg 以內的 Linezolid 還是一樣有良好效果，也同時應證能減輕藥物毒性使在可控制範圍內。

討論及建議事項：

重度肺結核研究建議應實際追蹤個案回診確認是否復發或再進行更嚴謹之前瞻性研究以支持復發與 PZA 使用之關係，以解決臨床醫師對 PZA 是否延長使用無共識之問題。複雜性多重抗藥性結核病研究原本預估收案數至少 15 位，但由於疾管局對於使用 Linezolid 的患者條件評估、補助經費等種種考量之政策上的限制，使得今年光是中區團隊就有幾位原本可能收案的困難治療結核病患者未能通過用藥補助申請而無法使用 Linezolid 治療及參與本研究，也相對使得收案數一直無法增加，其它團隊也反應過用藥經費申請困難的考量以致不利收案。

複雜性多重抗藥性結核病的治療是複雜而耗時的，加上收案過程不如預期順利，仍有許多難以治療的複雜性多重抗藥性肺結核病個案患者因條件、經費問題的限制未能參

與研究。我們希望將來對於 Linezolid 這項有效的抗結核藥物的使用能獲得政策上的支持並有更多、時程更長的探討研究。

關鍵字： 重度肺結核、複雜性多重抗藥性結核病、治療療效

Abstract

Purpose of the study

Investigate the outcome of early application of non-routine anti-tuberculosis medication strategies in severe tuberculosis and complex MDR-TB cases.

Methods

This research involves two parts:

1) Severe tuberculosis: Retrospective collection of data from Jan 2006 to Dec 2007 will be performed. Hospitals involved are Hualien Tzu Chi Hospital, Taipei Wang Fang hospital, Taichung hospital, Changhua hospital, and Chest hospital. Subjects total cases are 800, 295 minimal disease, 323 moderately advanced disease and 182 far advanced disease tuberculosis cases. Clinical record, laboratory data and sputum data will be collected. Multivariate Statistical Analysis and survival analysis methods are used to analyze the effect of treatment strategies and the main influencing factors.

2) Complex multiple resistance tuberculosis: Subjects are selected from MDR-TB program teams (Taipei, North, East, Central and South team) with persistent positive sputum and are resistant to more than 7 types of anti-resistant drugs or there are insufficient anti-tuberculosis medications to use; subjects excluded are pregnant women, children under 12 and patients with life threatening disease. This research is to include Group 5 anti-tuberculosis drugs in the treatment regimen to evaluate its effect in sputum conversion rate. The treatment duration is until 18 months after the subject's sputum conversion. The estimated subjects are 15-25 patients.

Main Finding

1) Severe pulmonary tuberculosis : this study revealed the severity of tuberculosis was highly correlated to sex, education degree, smoking, alcohol drinking, and co-morbidity like diabetes mellitus. The sputum conversion rate had high correlation with education degree, smoking and severity of disease defined by CXR. But the extension of PZA treatment had no effect on sputum AFB stain conversion rate , sputum culture conversion rate, cure rate and 2 year relapse rate among far-advanced and non-faradvanced pulmonary tuberculosis.

2) Complex MDR-TB cases: Total 9 patients received Linezolid for the treatment of complex MDR-TB , side effects occurred in 6 of those 9 cases, primarily mild to moderate anemia 、dizziness 、thrombocytopenia, optic and peripheral neuropathy symptoms , however only one case discontinued to use Linezolid. Culture conversion occurred in 4 cases at a median of 1.7 months , this indicated even no more than 600mg Linezolid daily have efficacy in the treatment and lower dose Linezolid was well tolerated.

Conclusion and suggestion

This study revealed the extension of PZA treatment had no effect on sputum conversion rate, cure rate and relapse rate. But there were many weak points in this retrospective study like inadequate time of patients follow-up. So we suggested a prospective study to resolve this problem if extension of PZA treatment is needed in far-advanced pulmonary disease.

The treatment for complex MDR-TB is complicated and time-consuming, Linezolid has appeared to be a potent drug to treat complex MDR-TB. If cost was not prohibitive and CDC could approve more patients for using Linezolid, there would have more patients participated this study. Therefore we hope further and bigger scale study of outcomes with Linezolid can be done in the future.

Keywords: severe tuberculosis、complex MDR-TB、PZA、linezolid

壹、前言

結核病從1940年代起已是可被藥物治癒的疾病，但目前仍是肆虐全球，威脅人民健康最重要的傳染病之一，僅次於愛滋病(HIV/AIDS)成為全球第二大傳染病死因[1]；以2008年世界衛生組織(WHO)所統計，目前有二十多億人口感染結核桿菌，世界各地每秒鐘就有一名新的結核菌感染者產生，全球約有三分之一的人口感染結核菌，其中5%-10%會發病或具傳染性，若結核病缺乏積極治療，每一位開放性結核病患者平均每年可傳染5-10人[2]。而每年新增加的多重抗藥性結核病個案有49萬人，佔肺結核病患的5%，並造成13萬人死亡[1,3]。當中又以中國、印度佔一半的病例，為全球比例最多的國家[4]。

近年來，因為生活環境的劣質化、人口過度集中於都市、國際間交通頻繁、外籍勞工的引進，以及愛滋病散播等因素，結核病患者似有增加的趨勢。而結核病在台灣仍是法定傳染病中，每年確定個案數與死亡數最多的傳染病，在我國仍是一項急待解決的公共衛生問題。依據疾病管制局統計，2007年有14,480新增結核個案發生，其中42%為痰抹片陽性個案[5]，此部分病人傳染力比抹片陰性病人要來的高，較會造成公共衛生威脅；而這些抹片陽性病患中又有一部分患者以X光分類可歸為重度肺結核個案，此類病人帶菌量相當大且通常有慢性咳嗽，所以會不斷咳出大量感染性飛沫，這類患者其實是目前結核防疫的重大挑戰，若不能儘早診斷並加以隔離治療，此類病患將會是社區中重大的公共衛生威脅[6-8]。重度肺結核患者因人數相對較少且分散各地，根據2005年Abdul Samad B.H.對馬來西亞Johore地區研究資料顯示，新確診之痰抹片陽性的結核病病患中，重度結核病病患約僅佔1.6%[9]，然而，台灣以及國際其他地區仍缺乏針對重度結核病患者發生率的管理數據。

透過臨床治療發現，重度結核病患者在被診斷為重度結核病之前會顯示出長期性的臨床徵狀，並且造成嚴重的公共衛生問題。由於不同國家各自的公共衛生管理與通報系統差異，以及教育普及性、經濟地位、區域醫療照護系統的可及性或源自社會心理的障礙等，皆容易造成延遲診斷情況發生 [10-12]。然而，重度結核病在痰培養轉為陰性前對他人的傳染力並不會憑空消失，但實際上卻未有相關研究對於重度結核病患者的延遲診斷情況進行探討。且對於重度結核病患者的治療，醫師往往遭遇到患者已持續用藥數月但痰抹片仍持續呈現陽性，或面臨到須對重度結核病患者採用單一用藥或增加更多藥物的選擇難題。在目前標準治療下，結核病患者有90%可在治療兩個月時痰液呈現陰轉[13,14]，但未有研究顯示在相同治療情況下，重度結核病患者是否亦有相同的陰轉機率，陰轉速度所落區間為何。且目前文獻所知，均為混合的統計，未將重度肺結核分層統計，重度肺結核的病人治療時間和復發情況是否會有不同，對現前結核病治療上仍屬未知。胸腔病院為南台灣結核病的轉診中心，許多重度結核病患者都會轉至胸腔病院，對於重度結核病患者已有初步前導性研究，雖然重度結核病患者僅佔結核病患者少數比例，但其高帶菌量與慢性咳嗽將造成嚴重公共衛生問題，依據胸腔病院對於重度結核病的前導性研究顯示，重度結核病主要發生於未有良好控制的糖尿病患者與低社經地位的族群，且普遍有

延遲診斷情況，亦伴隨包含體重減輕等的系統性發炎反應。而重度結核病患者的治療反應非常緩慢，尤其是痰液的陰轉速度。在藥物使用上，PZA或aminoglycoside建議可加入重度結核病患者的標準治療中。有鑑於台灣醫師對於重度肺結核治療策略不同，並不完全按照「治療準則」，故本計畫擬收集台灣主要結核後送醫院的重症結核分析，以回溯式研究應可得到不同的治療策略對於治癒率和復發率的影響，並推論出較好的治療策略，未來再進行前瞻性研究。

另外，近年來多重抗藥性結核病個案呈上升趨勢，對全球抗結核病計畫有很大的威脅性。依世界衛生組織2008年所估計全球約有44萬的多重抗藥性結核病人，死亡人數高達15萬人[15]。2009年的統計更指出在蘇聯4位新結核病患者中，就有一位是多重抗藥性結核病[4]。但是，隨著藥物的增加，抗藥的種類增多，治癒困難度也隨著增高。許多個案都是無法以常規的用藥治療或已經被列為慢性開放性肺結核而必須放棄治療。從我們今年MDR照護團隊第三季成果分析報告所統計，目前不收入團隊治療（含慢開者）有33人，治療失敗的有23人（7%，23/337），因結核病死亡的有7人（2%，7/337），而痰檢體在收案後6個月陰轉的人數比率為60%（如圖一）。導致這些治療結果的危險因子有HIV、糖尿病、肝硬化、腎衰竭等都影響著治療的成果。因此，新的多重抗藥抗結核策略迫切需要被探討，來提高個案的治癒率和監控結核菌的傳播。

目前根據多重抗藥性結核病臨床醫師指引，治療多重抗藥性肺結核的基礎原則為使用至少4種以上有效藥敏的抗結核病藥物。治療組成先由一線藥開始，然後fluoroquinolone類的藥物和針劑，再來二線藥物加到總共有4-6種口服抗結核病藥的處方；抗藥性高的患者則可以考慮始用三線藥（如圖二）[3]。

而在藥物上的分類第三線藥分在第五類抗結核藥屬於抗藥性結核病的治療藥效並不明確還不能納入常規的治療處方中[16]。（附錄一、藥物分類）

雖然第五類藥物的明確藥效並不清楚，但綜觀國外文獻顯示，Linezolid（加B6來防止hematologic toxicity），clofazimine，與imipenem有相當良好的成效，可在短期內降低結核菌量。從2008香港的文獻報告顯示Linezolid對於MDR-TB有臨床上的治療成效，在對fluoroquinolones抗藥的患者上，可迅速的減低結核菌量，但是缺點是在服用一天2次的劑量時，會有嚴重的副作用，患者常無法忍受超過2-3個月的療程，如果將劑量減成1天一半骨髓毒性似乎可以減輕[17]。而這項結果在2009年韓國的發表也證實了，一天600 mg Linezolid（分成一次或兩次服用）可減少骨髓毒性[18]。另外，德國的流行病學研究報告指出，33.8%的患者在使用過Linezolid有出現副作用，其中的56%有嚴重的貧血症狀，但是大部分報告確未提到有效的數據可評估Linezolid的用法與安全劑量[19]。這些都證實了當對現在認為對結核菌殺菌效果最佳的fluoroquinolone類藥品產生抗藥時這些都是可以替代的。因此，探討第5類抗結核病藥的安全劑量與監測會導致的副作用並加以處理，提高順從率和治癒率是現在全球抗結核組織所關注的問題。這次的研究結果，可當作以後臨床治療上的根據，並且提高多重抗藥性結核病個案的成功治療率，對台灣的結核病防治治療上有相當大的幫助。

貳、材料與方法

1. 研究設計

收案對象將會分別在各團隊（台北團隊、東區團隊、北區團隊、中區團隊、南區團隊）進行治療與追蹤。研究對象將建立基本的檢查資料，以作為後續治療過程之監測比較。包含症狀評估、痰塗片、痰培養、藥物敏感性試驗結果、血液定期每月追蹤及每三個月胸部 X 光檢查。

a) 重度肺結核：

研究將採用疾病管制局中央傳染病監測資訊網自 2006 年 1 月至 2007 年 12 月所登記的新通報結核病確診個案，再分別自五家醫院中各蒐集至少 30 名重度肺結核與 30 名非重度肺結核個案的臨床檢驗資料與 X 光片，並以細菌學或病理學資料作為判斷證明。研究預計於五家醫院共蒐集至少 300 名個案資料（150 名重度肺結核個案與 150 名非重度肺結核個案）進行比較，透過 X 光片的判讀，將個案分為非重度肺結核和重度肺結核兩組，如圖三所示。

樣本以台灣地區北、中、南、東四區的五家醫院重度與非重度肺結核個案至少 300 名進行相互比較，預計樣本蒐集醫院與蒐集樣本數如下，實際收案情形如圖四。

樣本蒐集單位	重度肺結核	非重度肺結核	總計
花蓮佛教慈濟綜合醫院	30	30	60
台北市立萬芳醫院	30	30	60
行政院衛生署台中醫院	30	30	60
行政院衛生署彰化醫院	30	30	60
行政院衛生署胸腔病院	30	30	60
總蒐集樣本數	150	150	300

胸部 X 光的疾病分類

胸部 X 光攝影結果將委由不清楚個案治療病史的胸腔相關醫師協助判讀，並依 National Tuberculosis Association of USA(1961)所作摘要分類為：

- i. Mild cases：病灶的總區域在單一或兩肺葉中小於虛擬水平線所經

過第 2 肋軟骨和胸骨交接處的上方區域。

- ii. Moderate cases：低或中密度病灶總面積超過 mild cases 區域且未超過單片肺葉區域；若病灶為高密度或非常密集，則以未超過單片肺葉的 1/3 區域；若為開洞病灶，則以單一開洞直徑或多個開洞直徑總和未超過 4 公分。
- iii. Far-advanced cases：病灶分佈和開洞直徑皆大於 moderate cases。

b) 複雜性多重抗藥性結核病：

多重抗藥性菌株比其他菌株較不易醫治，治療時間長(需 18 至 24 個月)，所以研究計畫預定 2-5 年。根據 2007 到 2010 多重抗藥性結核病醫療照護體系加入專案的個案所分析與統計，中區 MDR-TB 有 5 位可能符合收案條件。預估每個團隊有相同的個案比例，預定收案個案為 15-25 位。

- i. 研究對象：96 年至今台灣地區疾病管制局多重抗藥性結核病醫療照護體系加入專案的個案。
- ii. 收案條件：從 MDR-TB 照護體系中(各團隊台北團隊、東區團隊、北區團隊、中區團隊、南區團隊)，對 7 種以上抗結核病藥抗藥的患者或有嚴重副作用而無足夠抗結核藥物可用者。
- iii. 排除條件：孕婦、肝硬化或尿毒症病人、生命垂危或處於不穩定的重病、12 歲以下兒童。

病人分類

個案在被診斷為多重抗藥性肺結核時，過去是否接受過治療對病人的預後會有影響，因此個案可大致分類如下：

- i. 新病人：從未接受抗結核藥物治療，或僅接受一個月以內的抗結核藥物治療之多重抗藥性肺結核病個案，如為一般結核病個案首次診斷為多重抗藥性肺結核病，則不受治療一個月之限制。
- ii. 復發：以前罹患肺結核曾完治過，復發時被診斷為多重抗藥性肺結核病。
- iii. 失落：在之前治療過程中，曾有兩個月或以上中斷，再次治療時已是多重抗藥性肺結核病。
- iv. 初次治療失敗：使用標準處方治療到第四個月仍痰培養陽性或第五個月痰抹片陽性，此時被診斷為多重抗藥性肺結核病。
- v. 再次治療失敗：病患因失落、復發或初次治療失敗而開始接受再治處方治療，到第四個月仍痰培養陽性或第五個月痰抹片陽性，此時被診斷為多重抗藥性肺結核病。
- vi. 其他：過去治療的結果不清楚無法歸類。

治療原則

治療過程全程以包括第 5 類抗結核病藥品 Linezolid 和 clofazimine，如患者可住院加打 imipenem 4 個月為基本藥方，再根據病患藥物副作用與抗藥情況做藥物調整，達到至少有用的口服藥物 4 種，以積極治療方式至痰陰轉 18 個月。為防止 hematologic toxicity，使用 Linezolid 時需要加 vitamin

B6。

MDR-TB 病人使用二線藥物治療，副作用遠高於一線藥，而五線藥的副作用又遠大於二線藥，病人發現副作用時，需適當處理。此計畫全程採用直接監督治療（DOT），開始治療時需告知病人可能會出現的副作用，萬一有不舒服時儘快通知關懷員。

研究基本處方：

- 1). Linezolid 600mg/QD
- 2). Clofazimine：治療前 2 個月 200 mg/QD，接下來療程 100 mg/QD
- 3). Imipenem（如患者可住院）
- 4). 針劑（選一）
 - Amikacin
 - Kanamycin
 - Capreomycin
 - Streptomycin
- 5). 藥敏有效之抗藥性結核藥
 - Ethambutol
 - Prothionamide
 - Pyrazinamide
 - Levofloxacin
 - Moxifloxacin
 - PAS or Paser granule
 - Rifabutin
 - Terizidone
 - Cycloserine

達到至少有用的口服藥 4 種

- 6). Vitamin B6 100mg

附錄二、抗藥性結核病建議劑量^[16]

2. 基本資料收集

- 1). 收集研究對象之基本資料 (Demographic Data)，包括年齡、性別、種族、身高、體重、生活習慣 (吸煙、飲酒、有無居所) 與合併疾病 (如糖尿病、心血管疾病、慢性肝病、慢性腎病、慢性阻塞性肺疾病、惡性腫瘤)。
- 2). 理學檢查胸部 X 光檢查和痰檢驗，包括：(1) 痰塗片和結核菌培養 (2) 一、二線藥敏檢查 (3) 胸部 X 光片 (4) 生化檢查 (e.g. GOT、GPT、bilirubin、creatinine、potassium、platelet、Hb)。
- 3). 用藥治療記錄：結核病過去病史、個案登記分類、住院紀錄，進行收製建檔。

治療資料收集

1). 結核菌檢查

定期追蹤驗痰、藥物感受性試驗。開始 2 個月以每 2 星期一次，接下來的療程以每個月驗痰一次。從文獻指出 Linezolid 在治療初期可迅速降低結核菌量[17]，因此我們在治療初期密切追蹤檢測結核菌菌量。

2). 胸部 X 光檢查

每二個月定期胸部 X 光檢查

3). 臨床症狀

治療期間每月複診一次觀察臨床症狀，密切注意觀察所有不適症狀，評估是否有可疑的副作用發生，如有症狀疑似藥物副作用時，即須再作適當的檢驗確認。

參、結果

(1) 重度肺結核

本次研究結合北、中、南、東團隊共收 800 名有效個案。依照 ATS 胸部 x 光分類 minimal disease 有 295 人, moderately advanced disease case 有 323 人, far advanced disease 有 182 人。在性別方面, 男性有 564 人, 占 70.5%; 女性有 236 人, 占 29.5%, 且男性罹患肺結核的嚴重度較女性高($\chi^2=11.236$, $p<0.01$)。

此研究對象之平均年齡為 54.85 ± 20.36 歲。我們發現教育程度偏低與罹患肺結核的嚴重度有高度相關($\chi^2=25.775$, $p<0.001$); 居住地以中部、南部居多, 共 539 人, 占 67.4%。在個人生活習慣方面, 有 311 人(占 43.0%)有吸菸習慣, 且吸菸者與罹病嚴重度呈高度相關($\chi^2=33.253$, $p<0.001$); 171 人(占 24.8%)有喝酒習慣, 而有喝酒習慣者與其罹病嚴重度亦呈高度相關($\chi^2=42.195$, $p<0.001$)。在個人病史方面, 165 人(占 20.8%)有高血壓、182 人(76.9%)有糖尿病, 其中罹患糖尿病者與罹患肺結核之嚴重度呈高度相關, ($\chi^2=23.712$, $p<0.001$)。見表一。

在病患治療藥物相關探討方面, Isoniazide 治療天數中位數為 193, 疾病嚴重度越高治療天數愈長, 其中以 far advanced disease 之治療天數最久, 中位數為 259, ($\chi^2=51.24$, $P<0.001$); Ethambutol 治療天數中位數為 184, 也是以 far advanced disease 之治療天數最久, 中位數為 216, 且罹病愈嚴重其治療天數愈長($\chi^2=38.02$, $P<0.001$); Rifampicin 治療天數中位數為 195, 仍以 far-advance 之治療天數最久, 中位數為 266, 且罹病愈嚴重其治療天數愈長($\chi^2=53.67$, $P<0.001$); Pyrazinamide 治療天數中位數為 63, 其中以 far-advance 之治療天數最久, 中位數為 76, 且罹病愈嚴重其治療天數愈長($\chi^2=10.86$, $P<0.001$)。此外, 痰液抗酸抹片價數以 negative 居多, 共 346 人(占 50.3%), 經檢定後發現抹片價數愈多與其罹病嚴重度呈高度相關($\chi^2=206.919$, $p<0.001$); 而培養的價數則以 Scanty 居多, 共 269 人(占 56.0%), 經檢定後也發現培養價數愈多與其罹病嚴重度呈高度相關($\chi^2=35.294$, $p<0.001$)。

肺結核病患都治情形方面, 有加入都治計畫者共 567 人(占 70.9%), 其中罹病愈嚴重者其都治的比例愈高($\chi^2=35.595$, $p<0.001$), 我們推測這和當時的公衛政策針對抹片陽性患者鼓勵患者接受都治有關。而治療結束後追蹤兩年內復發而重新開案者共 20 人(占 2.5%), 其中罹病愈嚴重者其重開的比例也愈高($\chi^2=5.721$, $p<0.05$)。

在 X 光片嚴重度方面, 以沒有開洞者居多, 共 515 人(占 64.4%), 且開洞愈嚴重者, 其罹病愈嚴重($\chi^2=774.095$, $p<0.001$)。病患之 X 光單、雙側病灶方面, 以單側<1lobe 最多, 共 395 人(占 49.6%), 雙側病灶之比例與罹患肺結核嚴重度有關($\chi^2=360.806$, $p<0.001$)。痰液抹片陰轉天數中位數為 14 天, 其中以 far advanced disease 所需陰轉天數最久, 中位數為 75 天, 且罹病愈嚴重其陰轉治療天數愈長($\chi^2=160.96$, $P<0.001$); 痰液培養陰轉天數中位數為 50.50, 其中仍以 far advanced disease 所需之陰轉天數最久, 中位數為 69.00, 且罹病愈嚴重其陰轉治療天數愈長($\chi^2=50.03$, $P<0.001$)。在治療結果方面, 以完治居多共 788 人(占 98.5%), 其餘為死亡個案。見表二。

在臨床症狀方面, 577 個病患罹病時有咳嗽的症狀, 其中有咳嗽的比例與罹病的嚴重度呈高度相關($\chi^2=39.918$, $p<0.001$); 而罹病過程中有咳血者共 71 人(占 12.3%); 罹病過程中有“喘”症狀者共 100 人(占 16.8%), 而會喘之患者與其罹病的嚴重度亦呈高度相關($\chi^2=15.910$, $p<0.001$); 罹病過程中有胸痛症狀者共 75 人(占 13.9%); 罹病時有發燒者共 141 人(占 22.4%), 罹患肺結核之患者在罹病過程有發燒症狀者, 其與疾病的嚴重度有高度的相關($\chi^2=15.956$, $p<0.001$); 罹病時有體重減輕者共 194 人(占 31.5%), 罹患肺

結核之患者在罹病過程有體重減輕症狀者，其與疾病的嚴重度有高度的相關($\chi^2=58.370$, $p<0.001$)；罹病時有無故疲乏者共 75 人(占 13.0%)。White blood cells (WBC) 中位數為 6060，其中以 faradvanced disease 之 WBC 值最高，中位數為 9600，且罹病愈嚴重其 WBC 值會愈高($\chi^2=29.19$, $P<0.001$)。Hemoglobin(Hb) 中位數為 12.90，其中以 faradvanced disease 之 Hb 值最低，中位數為 11.35，且罹病愈嚴重其 HB 值會愈低($\chi^2=42.71$, $P<0.001$)。Platelet (plt) (K) 中位數為 298，其中以 faradvanced disease 之 Plt (K) 值最高，中位數為 382.5，且罹病愈嚴重其 Plt (K) 值會愈高($\chi^2=111.41$, $P<0.001$)。Alanine aminotransferase (ALT) 中位數為 18；Albumin 中位數為 3.50，其中以 faradvanced disease 之 Albumin 值最低，中位數為 3.35，且罹病愈嚴重其 Albumin 值會愈低($\chi^2=13.86$, $P<0.01$)；Globulin 中位數為 3.50；Cr 中位數為 0.90；Calcium 中位數為 8.50，且罹病愈嚴重其 Calcium 值會愈低($\chi^2=8.89$, $P<0.05$)；Glycosylated Hemoglobin (HbA1C) 中位數為 8.20，其中以 faradvanced disease 之 HbA1C 值最高，中位數為 9.40，且罹病愈嚴重其 HbA1C 值會愈高($\chi^2=17.02$, $P<0.001$)。見表三。

經校正院別、性別、教育程度、有無吸菸、糖尿病、ATS、WBC、Hb、Alb 及正常體重範圍後，針對整體存活之多變項 Cox 回歸分析結果如表 4，發現教育程度國小者與不識字者其 2 個月內痰陰轉 Hazard ratio 為 0.354(95%CI, 0.129-0.972, $p<0.05$)；沒有吸菸者與有吸菸者之 2 個月內痰陰轉 Hazard ratio 為 2.045(95%CI, 1.065-3.925, $p<0.05$)；在 X 光嚴重度方面，minimal disease case 與 Faradvanced disease 2 個月內痰陰轉之 Hazard ratio 為 4.795(95%CI, 2.156-10.665, $p<0.001$)；Moderately advanced disease case 與 Far advanced disease 2 個月內痰陰轉之 Hazard ratio 為 1.617(95%CI, 1.824-3.175, $p<0.05$)。見表四。

另外，將胸部 x 光 ATS 的分類 minimal disease、moderately advanced disease case 歸類為 non-far advanced 及 far advanced disease 兩組後，使用 Kaplan-Meier plot 進行分析。研究發現抹片及培養之 far-advance 之 curve 與 non-faradvance 之 curve 的 gap 較為明顯，而整體存活率上有統計顯著差異($p<0.001$)，如圖六。

本研究亦針對 far advanced disease 患者使用 pyrazinamide 天數對其治療結果是否有影響作進一步分析，我們以 pyrazinamide 使用天數是否大於 75 天將患者分成兩組，由於 guideline 規定 pyrazinamide 使用為兩個月，權衡 non-faradvance 及 faradvance 之使用時間後，以 75 天為分組的切點。結果發現院別間使用 pyrazinamide 天數有顯著差異，其中以胸腔病院使用 pyrazinamide 大於 75 天之比例較高($\chi^2=13.663$, $p<0.05$)。其餘各變項間(包括：性別、年齡、正常體重範圍、是否都治、是否罹患糖尿病、是否開洞、抹片價數、培養價數、抹片陰轉天數、培養陰轉天數、治療結果及是否重開)，兩組皆無顯著差異。探討這兩組之間治療結果差異，我們發現不論以痰液抹片陰轉天數、痰液培養陰轉天數、完治與否還有是否於兩年內復發兩組間皆無明顯差異。見表五。

另外，亦針對 H 抗藥是否對治療成果及復發率有所影響進行分析，結果發現 INH 抗藥與復發情形間比無顯著差異。見表六

(2) 複雜性多重抗藥性結核病

2011 年二月至 2011 年十月複雜性多重抗藥性結核病部分研究收案人數總計九人，其中三位分別在 2007、2008、2009 年被診斷為 MDR，兩位在 2010 年，其餘四位則在 2011 年加入 MDR 團隊。

結合個案在符合本研究收案條件前都已開始使用二線藥物一段時間，但治療效果不佳，並逐漸發展出對多種藥物有抗藥性，所以經各治療醫院醫療團隊評估後開始使用第五類藥物 Linezolid 至用藥處方中繼續治療觀察。

個案治療結果

九位中有一位在八月中旬因心機能不全死亡，一位已完治，一位預計 2012 年二月可完治，其他六位繼續治療中。由於個案數不多且大都尚在治療中，逐一簡述其用藥治療過程。

個案一

二線藥使用三個月後陰轉，但不到半年又陽轉，因個案情況無法開刀，經評估後開始使用 Linezolid，一個月內即痰陰轉並持續陰轉，個案因過去有粉塵病史肺功能不佳，治療期間發生氣胸住院，但服藥無顯著副作用，目前續用藥治療中，預計 2012 年二月可完成治療。

個案二

二線藥使用兩個月後開始加入兩種第五類藥(Linezolid, Clofazimine)，隔天驗痰已痰陰，之後一直持續陰轉，三個月後由於下肢麻痛的副作用停用 Linezolid，目前僅使用使用四種藥物(包含 Clofazimine)，並依疾管局病審指示申請使用 Terizidone。

個案三

今年復發後強制住院治療，痰陰後予外科處理，至今持續陰轉，因為多重抗藥，因此處方加入 Clofazimine 和 Linezolid，目前出院改門診治療並觀察中。

個案四

二線藥物使用一個月後加入 Clofazimine，一個月後再加入 Linezolid，此時已痰陰，四個月內有因副作用短暫停用，持續陰轉，目前已出院改門診治療，持續觀察中。

個案五

個案診斷為 MDR 後即開始以包含 Linezolid 的處方治療，三個月後陰轉，中間因貧血曾停用七天，之後又因手腳麻木的副作用將劑量改為 300mg，持續陰轉，目前繼續以包含 300mg Linezolid 的處方繼續治療觀察中。

個案六

個案 2007 年診斷為多重性抗藥後雖有治療但一直持續痰陽，2009 四月開始加用第五類藥 Linezolid 和 Imipenem，42 天後已兩套痰陰，但因副作用(血小板、紅血球數下降、頭暈)停用 Linezolid 三個月，停用 Linezolid 初期有一個月時痰陰，後來繼續使用 Linezolid，持續陰轉，每個月會因貧血而停用 Linezolid 四天左右，但大致情況良好，2011 年二月完治前半年則無明顯副作用，共用 Linezolid 22 個月。

個案七

2011 年 7 月底 開使用 Imipenem，十天即因嚴重腹瀉而停用，9 月中開始加入 Linezolid 300mg，因才剛收案不久，目前尚在觀察治療中。

個案八

個案四月中已痰陰，開始使用 Linezolid，有輕微貧血、白血球降低的症狀。併用的 clofazimine 有造成皮膚乾燥的副作用，已減量使用，目前持續陰轉，個案近日將予外科手術處理。

個案九

2010 年 9 月開始用 Linezolid，三周後痰陰，約兩個月後因血小板下降、貧血，將 Linezolid 劑量改為 450mg，之後持續沿用此劑量治療，之後斷斷續續有因為貧血的副作用短暫停用，但持續陰轉，病人於 2011 年八月中因心機能不全死亡。個案基本資料(表七)。

治療毒性、副作用

在我們的研究中九名個案中有六名在使用 Linezolid 治療過程中有出現副作用，約是 66% 的比例，其中四位有貧血頭暈症狀，這其中兩位合併有血小板低下症狀，一位則也有視

力模糊的症狀；另外有兩位有手腳麻木的副作用發生。雖然有上述這些副作用，但經由醫護人員的監督及妥善處置，只有一位個案因為嚴重手腳麻痛的副作用在三個月後停止使用 Linezolid 治療，其餘皆繼續接受使用 Linezolid 治療。Linezolid 的可能副作用如乳酸中毒(lactic acidosis)及血清素症候群(serotonin syndrome) 則未在九名個案身上發現。個案治療結果 (表八)

肆、討論

(1) 重度肺結核

本研究發現罹病的嚴重度在個人基本資料方面與性別、教育程度、是否吸菸、是否喝酒、本身罹患高血壓、糖尿病者呈高度相關。

在治療藥物方面亦發現愈嚴重者使用 Isoniazide、Ethambutol、Rifampicin、Pyrazinamide 的天數愈長，如以變異係數來看這四種一線治療藥物的治療天數我們發現 Isoniazide、Ethambutol 及 Rifampicin 的變異係數介於 0.5~0.6 間，但 Pyrazinamide 則高達 1.03，顯然臨床醫師以 Pyrazinamide 治療結核的使用天數上存在明顯差異，所以我們對 Pyrazinamide 使用天數對治療結果的影響作進一步探討。

在臨床症狀方面，發現罹病愈嚴重者其咳嗽、喘、發燒及體重減輕等症狀亦會較為明顯，且其 WBC、HB、Platelet、Albumin、HbA1C 數值亦會隨著罹病愈嚴重而變化，此現象與其是否吸菸、是否罹患糖尿病、高血壓之情形吻合。

此外本研究亦針對痰液陰轉速度進行 Cox 回歸分析，將所有影響罹病嚴重度之相關變項(已排除相似之變項)一起放入回歸方程式後發現教育程度、是否吸菸及 x 光片嚴重程度依然是影響其陰轉速度的主要原因，且以 x 光片之嚴重程度為最。因此，本研究進一步將 far-advance 及 PZA 之間的關係進行深入探討。

在痰液陰轉的情形方面，抗酸抹片價數與培養的價數愈多其罹病愈嚴重，而 non-faradvance 抗酸抹片 80% 在 48 天(約 1.5 個月)陰轉、培養 80% 在 60 天(約 2 個月)內陰轉；faradvance 抗酸抹片 80% 在 126 天內(約 4 個月)陰轉、培養 80% 在 82 天(約 2.7 個月)內即已陰轉，其中抗酸抹片 faradvance 陰轉的速度較其培養的速度緩慢，與臨床醫師之經驗吻合。但由於研究中發現 PZA 在使用的天數有很大的差異，因而進一步以 PZA 使用大於 75 天及小於 75 天進行分組，從 PZA 使用天數的不同檢視各變項間是否有所差異，研究結果顯示，不論以痰液抹片陰轉天數、痰液培養陰轉天數、完治與否及是否於兩年內復發，兩組間皆無明顯差異，且各變項間除胸腔病院使用 PZA 天數較其他醫院長之外，其餘各變項並無顯著差異，由此可發現在標準治療處方下。PZA 似乎不需延長其使用時間。

(2) 複雜性多重抗藥性結核病

一直以來複雜性多重抗藥性結核病患者由於缺乏有效的抗結核藥物、或無法忍受二線藥物的副作用，使得許多患者在臨床上的治療效果都不甚理想。近年來國外已有許多研究顯示 Linezolid 對於複雜性多重抗藥性結核病患者有顯著治療效果，但同時國外研究結果也指出由於其副作用及骨髓抑制、末梢神經炎等藥物毒性問題造成臨床使用上的限制。2008 香港的文獻報告顯示 Linezolid 對於 MDR-TB 有臨床上的治療成效，在對 fluoroquinolones 抗藥的患者上，可迅速的減低結核菌量，但是缺點是在服用一天 2 次的劑量時，會有嚴重的副作用，患者常無法忍受超過 2-3 個月的療程，如果將劑量減成一天一半骨髓毒性似乎可以減輕 [17]。2009 年韓國的研究發表也證實了，一天 600 mg Linezolid (分成一次或兩次服用) 可減少骨髓毒性[18]。2010 年加州的一項研究也以假設一天 600 mg Linezolid 有較少的毒性但一樣是有效果的概念為基礎來執行，並得出良好的結果[20]。

在本研究計畫裡，我們的治療過程以包括第 5 類抗結核病藥品 Linezolid 和搭配 clofazimine，如患者可住院加打 imipenem 4 個月為基本藥方，以有使用 Linezolid 作為收案標準，再根據病患藥物副作用與抗藥情況做藥物調整，達到至少有用的口服藥物 4 種，以積極治療方式至痰陰轉 18 個月。使用 Linezolid 時需要加 vitamin B6，以防止

hematologic toxicity。

由於個案分散在各合作醫院，我們全權尊重各收案醫院醫療團隊的治療用藥評估、副作用發生的處置、停用藥與否的決定。此計畫並全程採用直接監督治療 (DOT)，開始治療時明確告知病人可能會出現的副作用，萬一有不舒服時儘快通知關懷員或醫護人員。Schechter et al.的研究報告提出，由於對複雜性多重抗藥性結核病有效的藥物很少，與其因為副作用而停藥，在治療時了解及探討如何去妥善處理克服因 Linezolid 引起的副作用顯得更為重要。再者比起常見的因二線藥物所引發的嚴重腸胃不適，進而造成患者無法忍受而放棄治療的問題，Linezolid 甚少出現腸胃方面的副作用[20]。

我們的九名個案雖然使用的 Linezolid 劑量皆不超過一天 600mg，但還是有六位治療過程中有出現副作用，這比例算不低，比德國的流行病學研究報告[19]的 33%還高，但我們的個案症狀在暫時停用 Linezolid 或降低劑量(600mg→450mg 或 300mg)後都有獲得改善；嚴重貧血時則以輸血方式處置，病人也都願意繼續接受治療；相對的，個案在治療過程中因二線藥物引發的噁心、嘔吐、腸胃不適，針劑引發成的暈眩，Cycloserine 導致的情緒不穩、憂鬱等問題反而更是讓病人對繼續治療感到卻步不安甚至會抗拒繼續治療。

治療效果方面個案中有兩位是在用 Linezolid 兩個月內陰轉，一位則在用了三個月後陰轉，有兩位個案可能是在即將陰轉時開始使用所以剛用時即陰轉；另外有兩位是陰轉後開始使用 Linezolid，一位則剛開始使用不到一個月所以還是痰陽，尚待觀察。結核病的治療需要 18~24 個月，目前個案數仍未達研究預期的收案人數，加上僅有一位已完治，一位因其他因素死亡，一位已中途停藥，一位剛開始治療仍是痰陽的情況，很難有精確的治療效果統計。

儘管如此，就本研究四位由陽轉陰的個案，陰轉時間平均約為 1.7 個月，這已應證前面提到的 2008 香港文獻[20]中顯示的 Linezolid 可短期降低結核菌數，也同時應證即使是使用一天一次 600mg Linezolid 還是一樣有良好效果，並能減輕藥物毒性使在可控範圍內，更重要的是使患者願意配合繼續療程。

伍、結論與建議

(1) 重度肺結核

本研究發現 PZA 的延長使用，不影響其痰液陰轉的速度，而 PZA 的延長使用對於兩年內是否復發而言，沒有顯著差異。造成此結果無顯著差異之原因可能為：1. 兩年內追蹤的個案中有復發者共 20 位，其中 faradvance 只有 8 個，其復發人數及比例很少，在統計比較上其檢力較弱。因此 PZA 的延長使用是否真的沒有影響痰液及復發的比例，建議應再進行相關前瞻性研究相互應證。2. 本次資料庫的建置是由各院的兼任人員進行鍵入，其 coding 的品質是影響資料真實性的重要因素，且收案時間、整理資料及結案時間過於倉促，此部分也是影響分析品質的重要因素。3. 本研究將復發的追蹤時間定義為兩年，復發的個案之追蹤是以 CDC 資料庫之資料為主，由於時間、經費、人力的限制無法讓每位病患回診確認其是否真的復發，因此 PZA 的延長使用是否會影響復發率，建議應實際追蹤個案回診確認或再進行前瞻性 prospective 研究以釐清復發與 PZA 使用之關係，以解決臨床醫師對 PZA 是否延長使用無共識之問題。

(2) 複雜性多重抗藥性結核病

評估至目前的研究結果我們認為 Linezolid 對複雜性多重抗藥性結核病的治療是確實有效的藥物，一天一次 600mg 以內的 Linezolid 還是一樣有良好效果，但由於研究計劃執行時間由二月至今僅八個月，而複雜性多重抗藥性結核病的治療是複雜而耗時的，因此目前研究實際達成之目標為比較個案治療前後症狀的改善程度，及觀察探討出可能導致的副作用的處理方式，雖然由目前研究結果顯示 Linezolid 對複雜性多重抗藥性結核病的治療是確實有效的藥物，而副作用也多能妥善處理克服，但是結核病用藥是多項藥物合併治療，除非有對照組，否則單就目前情況很難判定最佳的 regimen combination; 加上目前疾管局對於使用 Linezolid 的患者條件評估、補助經費等種種考量之政策上的限制，使得今年中區團隊有幾位原本可能收案的困難治療結核病患者未能通過用藥補助申請而無法使用 Linezolid 治療及參與本研究，相對也使得收案數一直無法增加，其他地區團隊合作醫院也反應過因用藥經費問題以致不利收案，我們相信還有更多潛在個案也因有用藥申請困難的考量而無法給予治療；因此我們強烈建議並希望將來主管單位對於 Linezolid 這項有效的抗結核藥物能更開放使用標準，使更多病人受惠，也期能有人數更多、時程更長的探討研究。

陸、計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

(1) 重度肺結核

重度肺結核之研究發現 PZA 的延長使用，不影響其痰液陰轉的速度，而 PZA 的延長使用對於兩年內是否復發而言，沒有顯著差異。PZA 的延長使用是否會影響復發率，建議往後的研究應以更嚴謹的 prospective 研究進行，以解決臨床醫師對 PZA 是否延長使用無共識之問題。另抽煙及糖尿病對於結核病的嚴重程度有高度相關，可提供國家在設定國家結核防治策略(NTP)上的參考。

(2) 複雜性多重抗藥性結核病

複雜性多重抗藥性肺結核或因副作用而被迫放棄治療之個案對於結核病的防治一直是一大困擾，探討出新的治療用藥是現在全球急迫需要解決的議題。根據結核病治療指引多重與廣泛抗藥性結核病治療期間至少需要 18-24 個月，因此目前研究實際達成之目標為比較個案治療前後症狀的改善程度，及觀察探討出可能導致的副作用的處理方式，由目前研究結果顯示 Linezolid 對複雜性多重抗藥性結核病的治療是確實有效的藥物，而副作用也多能妥善處理克服，但是結核病用藥是多項藥物合併治療，除非有對照組，否則單就目前情況很難判定最佳的 regimen combination; 政策限制也使得收案困難重重、人數不如預期，我們期望未來能在政府政策的支持下能進行更大型、人數更多、時程更完整的研究來詳細探討建立台灣困難個案用藥處理模式，並期以第五類抗結核病藥物提升台灣 MDR 肺結核病患治療之成效及將來提供 CDC 制定 guideline 參考。

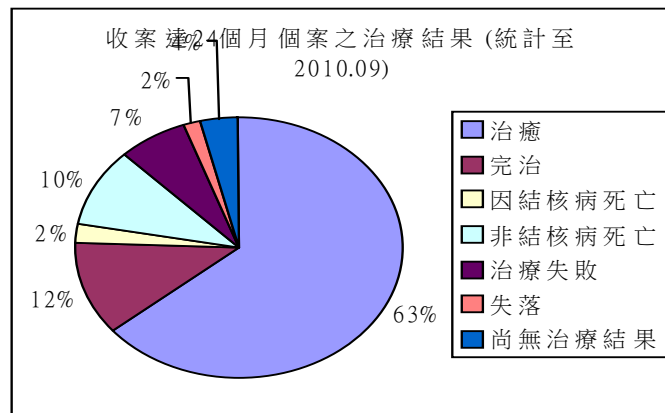
柒、參考文獻

1. World Health Organization: The global burden of disease: 2004 update. Geneva, *World Health Organization* 2008.
2. World Health Organization: Tuberculosis Fact Sheet. Available at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/index.html>. Accessed September 9, 2010.
3. Drug-Resistant Tuberculosis – A survival guide for clinicians(2nd ed.) Francis J. Curry National Tuberculosis Center 2008 www.nationaltbcenter.edu/drtb
4. World Health Organization: Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB) - 2010 global report on surveillance and response. *World Health Organization* 2010. *WHO/HTM/TB/2010.3*
5. .CDC annual report 2009, *Center for Disease Control, Department of Health, Executive Yuan, Taiwan* 2009
6. Aderaye G, Bruchfeld J, Assefa G, et al: The relationship between disease pattern and disease burden by chest radiography, M. tuberculosis Load, and HIV status in patients with pulmonary tuberculosis in Addis Ababa. *Infection* 2004;32:333-8.
7. Loudon R, Spohn S: Cough frequency and infectivity in patients with pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1969;99:109-11.
8. Fennelly KP, Martyny JW, Fulton KE, et al: Cough-generated Aerosols of Mycobacterium tuberculosis: A New Method to Study Infectiousness *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:604-9.
9. Abdul Samad B H: Improving Trend in Chest X-Ray Findings as a Performance Indicator in Detecting Early Pulmonary Tuberculosis Cases in Johore, Malaysia. TB & Leprosy Control Unit. *Johore State Health Department, Malaysia*, 2005.
10. Chern JP, Chen DR, Wen TH: Delayed treatment of diagnosed pulmonary tuberculosis in Taiwan. *BMC Public Health* 2008;8:236.
11. Chiang CY, Chang CT, Chang RE, et al: Patient and health system delays in the diagnosis and treatment of tuberculosis in Southern Taiwan. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005;9:1006-12.
12. Storla DG, Yimer SB, Bjune GA: A systematic review of delay in the diagnosis and treatment of tuberculosis. *BMC Public Health* 2008;8:15.
13. Domínguez-Castellano A, Muniain MA, Rodriguez-Baño J, et al: Factors associated with time to sputum smear conversion in active pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7:432-8.
14. Rekha VVB, Balasubramanian R, Swaminathan S, et al: Sputum conversion at the end of intensive phase of Category-1 regimen in the treatment of pulmonary tuberculosis patients with diabetes mellitus or HIV infection: An analysis of risk factors. *Indian J Med Res* 2007;126:452-8.
15. 行政院衛生署疾病管制局 2009 年台灣結核病防治年報,行政院衛生署疾病管制局
16. World Health Organization , Management of MDR-TB : a field guide. *World Health Organization. WHO/HTM/TB/2008.402A*
17. Yew WW , Chau CH , Wen KH: Linezolid in the treatment of “difficult” multidrug-resistant tuberculosis. *IJTL* 2008; 12 (3) : 345-346
18. Nam HS , Koh WJ , Kwon OJ , Cho SN , Shim TS: Daily half-dose linezolid for the treatment of intractable. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2009; 33 : 92-99.
19. Migliori GB , Eker B , Richardson MD’A and et al: A retrospective TBNET assessment of linezolid safety , tolerability and efficacy in MDR-TB. *European Respiratory Journal*

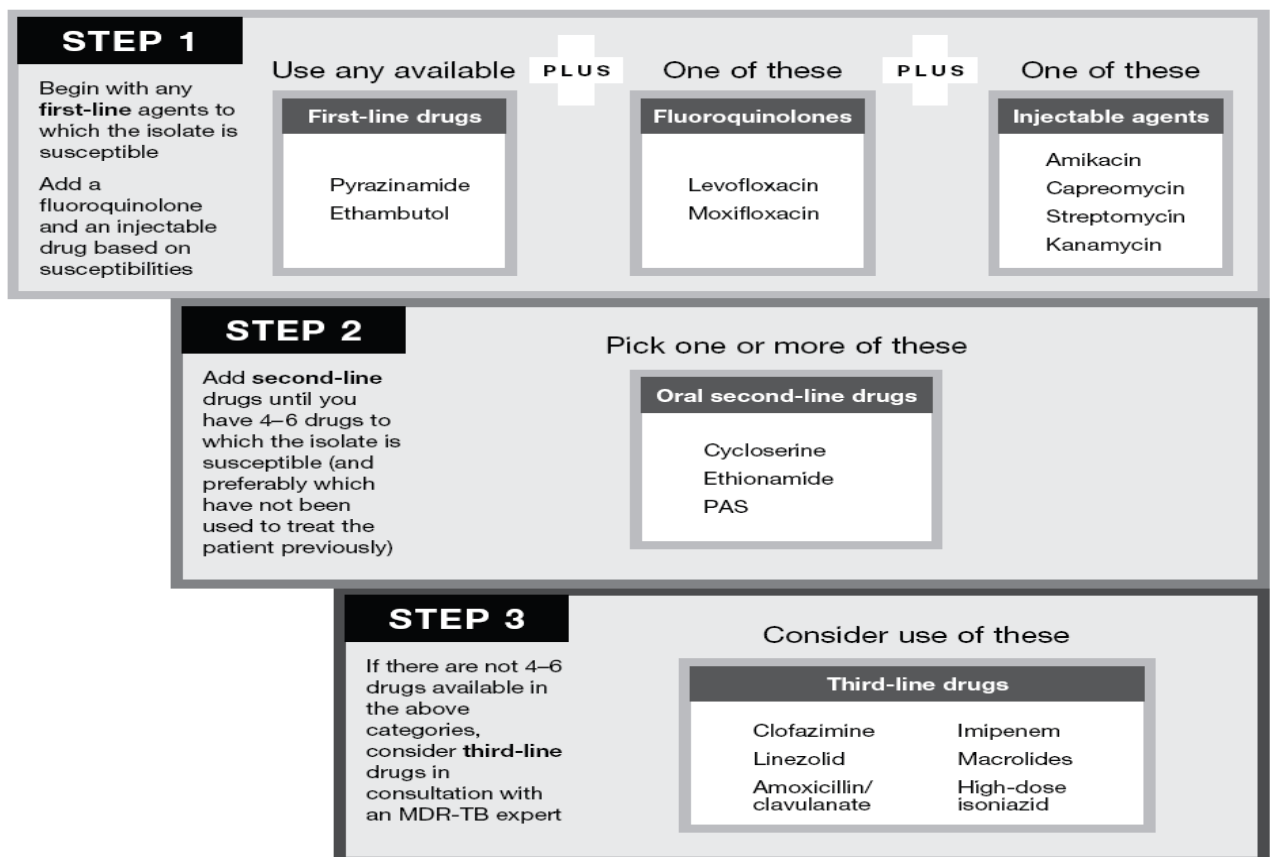
- 2009; 4(2) : 387-393.
20. Schechter GF , Scott C , True L , Raftery A , Flood J , Mase S: Linezolid in the treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis *CID* 2010; 50: 49-55
 21. Schaaf HS , Willemse M , Donald PR: Long-term linezolid treatment in a young child with extensively drug-resistant Tuberculosis *Pediatric Infectious Disease Journal* 2009; Aug 28(8): 748-50
 22. von der Lippe B , Sandven P , Brubakk O: Efficacy and safety of linezolid in multidrug resistant tuberculosis(MDR-TB)—a report of ten cases. *Journal of Infection* 2006; 52(2): 92-6
 23. Ginsberg AM: Tuberculosis drug development: Progress, challenges, and the road ahead *Tuberculosis* 2010; 90: 162-167
 24. Caminero JA , Sotgiu G , Zumla A , Migliori GB: Best drug treatment for multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis *Lancet Infectious Disease* 2010;10:621-29
 25. Schaaf HS: Tuberculosis :A comprehensive clinical reference 2009
 26. French G: Safety and tolerability of linezolid *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 51 Suppl S2: 45-53

捌、圖表

圖一、MDR 照護團隊收案 24 個月治療結果分析

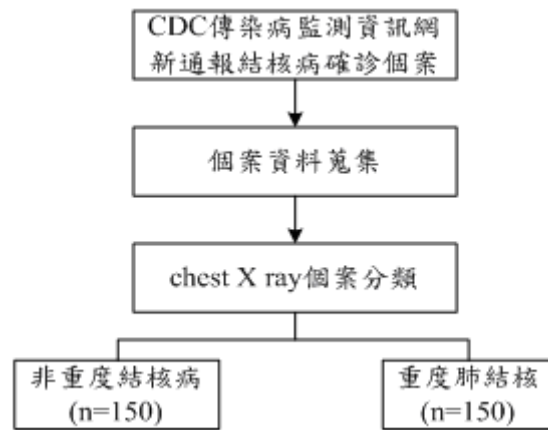


圖二、Building a Treatment Regimen for MDR-TB

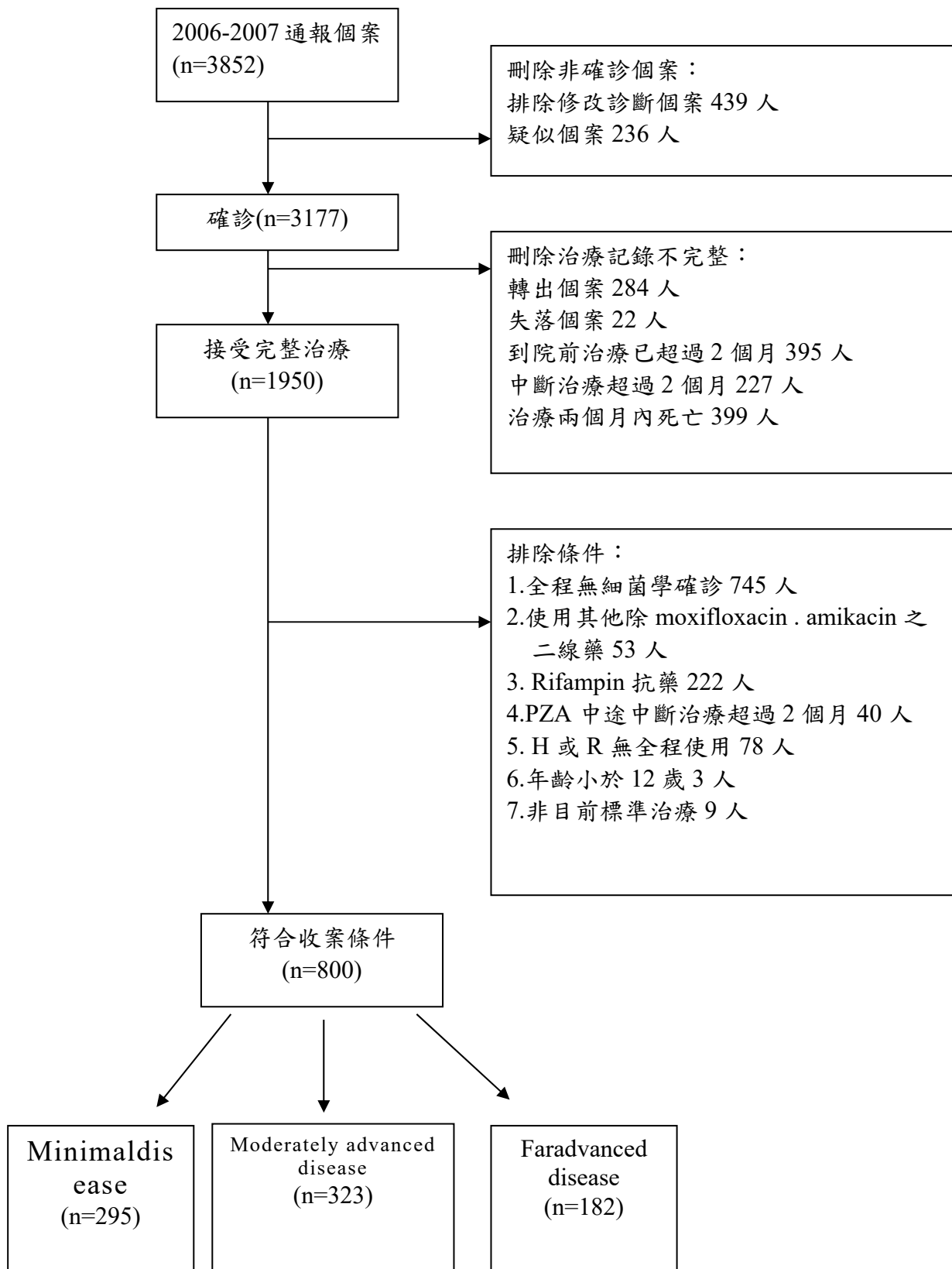


Reference: Drug-Resistant Tuberculosis – A survival guide for clinicians(2nd ed.)
 Francis J.Curry National Tuberculosis Center 2008

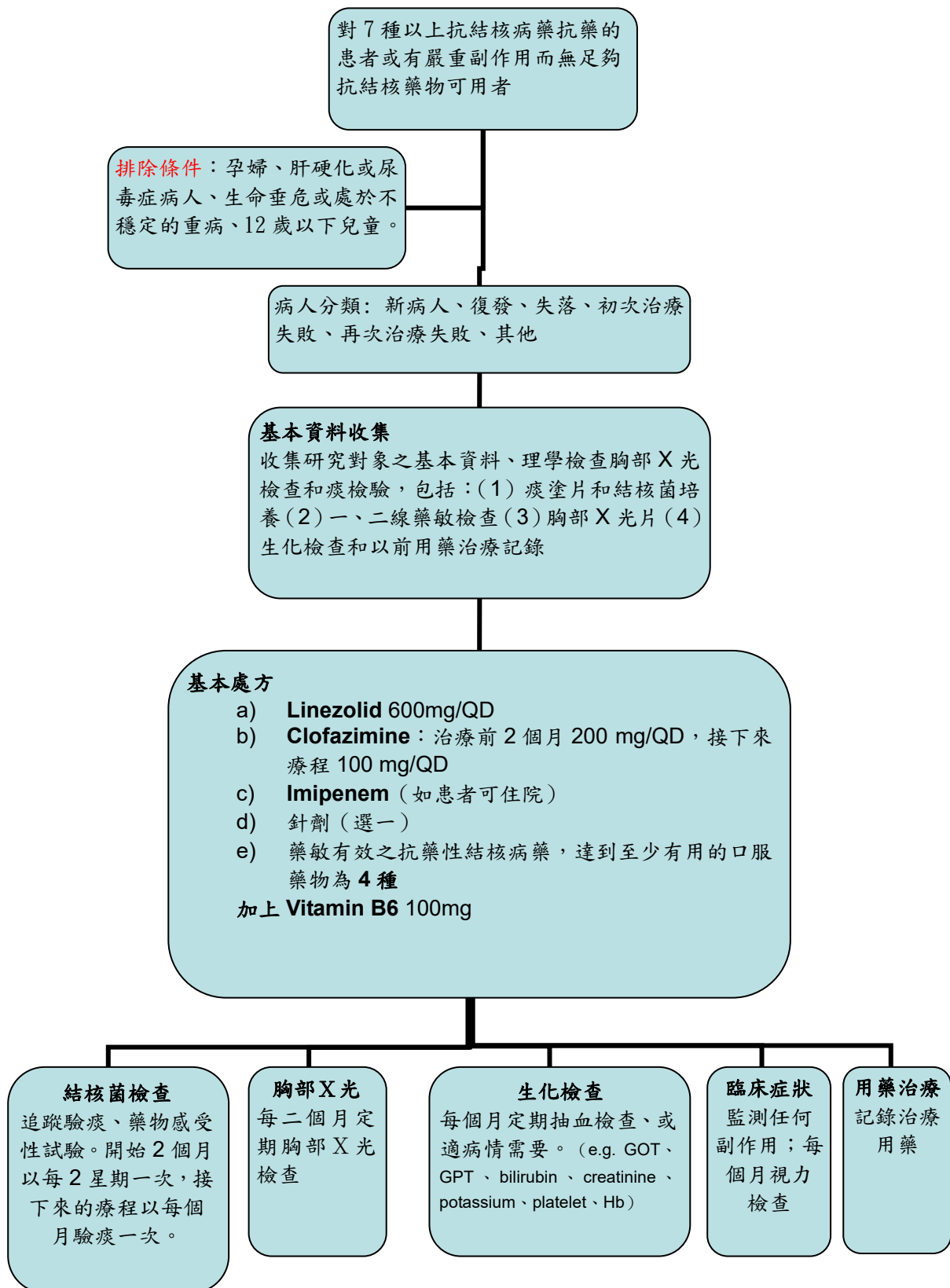
圖三、重度肺結核研究設計流程



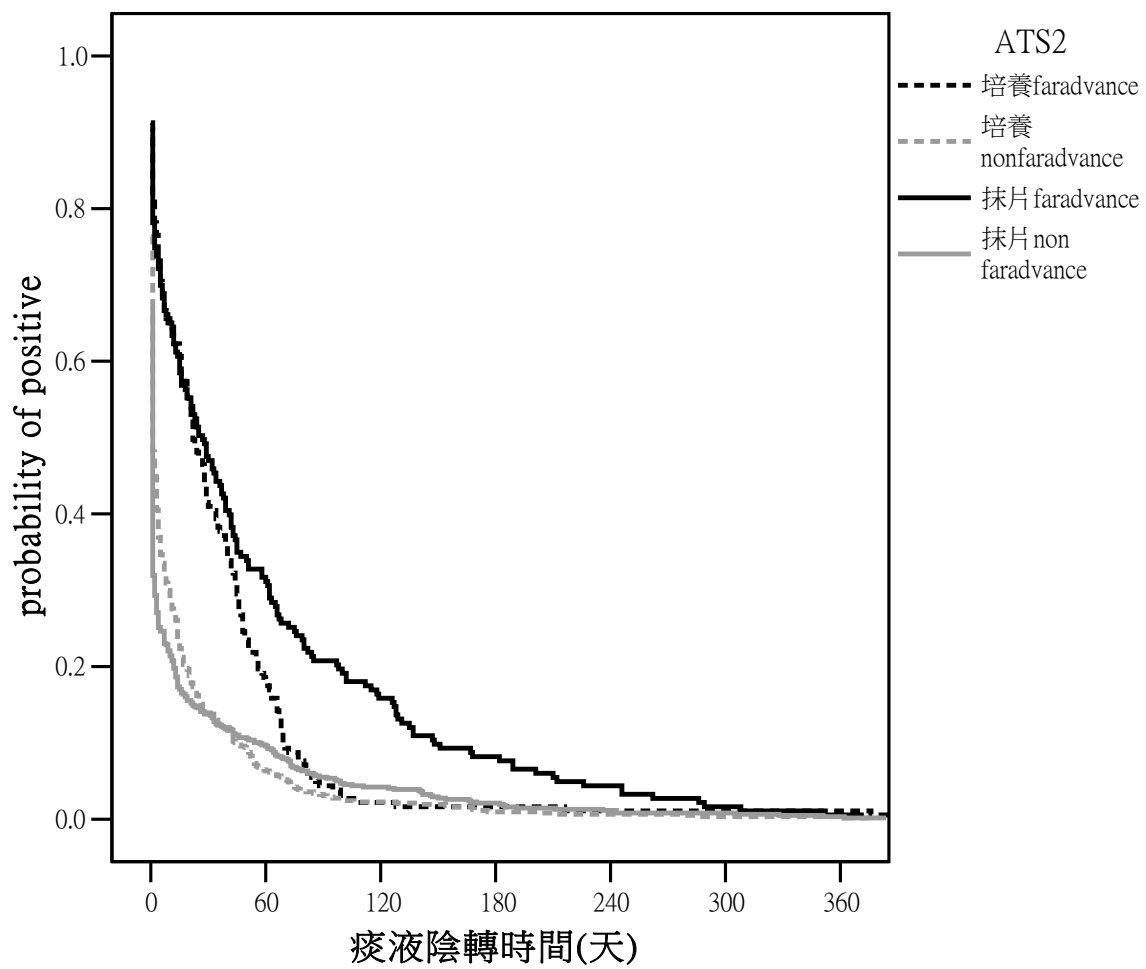
圖四、重度肺結核實際收案流程圖



圖五、複雜性多重抗藥性結核病收案流程圖



圖六、重度肺結核 ATS 個案抹片、培養痰液 2 個月內陰轉情形



表一、肺結核 x 光片嚴重程度與病患基本變項之分析

變項名稱	Total	Mini (n=295)	Mod(n=323)	Far (n=182)	χ^2/F	事後比較
	case(n=800) mean±SD /n(%)	mean±SD /n(%)	mean±SD /n(%)	mean±SD /n(%)		
性別						
男	564(70.5%)	106(35.9%)	90(27.9%)	40(22.0%)	11.236**	
女	236(29.5%)	189(64.1%)	233(72.1%)	142(78.0%)		
正常體重%	89±15	92±16	90±15	85±14	9.774***	Mini>far Mod>far
年齡	54.85±20.36	54.77±21.25	55.80±20.50	53.28±18.55	0.897	
教育程度						
不識字	89(15.1%)	29(14.2%)	39(15.9%)	21(15.1%)	25.775***	
國小	150(25.5%)	57(27.9%)	54(22.0%)	39(28.1%)		
國中	104(17.7%)	24(11.8%)	41(16.7%)	39(28.1%)		
高中職	148(25.2%)	50(24.5%)	70(28.6%)	28(20.1%)		
大學以 上	97(16.5%)	44(21.6%)	41(16.7%)	12(8.6%)		
居住地						
北部	206(25.8%)	84(28.5%)	81(25.1%)	41(22.5%)	10.526	
中部	257(32.1%)	90(30.5%)	110(34.1%)	57(31.3%)		
南部	282(35.3%)	102(34.6%)	103(31.9%)	77(42.3%)		
東部	55(6.9%)	19(6.4%)	29(9.0%)	7(3.8%)		

變項名稱	Total	Mini (n=295)	Mod(n=323)	Far (n=182)	χ^2/F	事後比較
	case(n=800)	mean±SD	mean±SD	mean±SD		
	mean±SD	/n(%)	/n(%)	/n(%)		
	/n(%)					
有無吸菸						
無	413(57.0%)	177(70.5%)	162(53.6%)	74(43.3%)	33.253***	
有	311(43.0%)	74(29.5%)	140(46.4%)	97(56.7%)		
有無喝酒						
無	518(75.2%)	209(87.8%)	208(73.8%)	101(59.8%)	42.195***	
有	171(24.8%)	29(12.2%)	74(26.2%)	68(40.2%)		
高血壓						
無	629(79.2%)	231(79.1%)	247(76.9%)	151(83.4%)	2.954	
有	165(20.8%)	61(20.9%)	74(23.1%)	30(16.6%)		
糖尿病						
無	606(76.9%)	246(85.4%)	240(75.2%)	120(66.3%)	23.712***	
有	182(23.1%)	42(14.6%)	79(24.8%)	61(33.7%)		
癌症						
無	773(98.7%)	286(99.7%)	311(98.4%)	176(97.8%)	4.020	
有	10(1.3%)	1(0.3%)	5(1.6%)	4(2.2%)		
腎功能不全						
無	765(97.5%)	280(97.6%)	308(97.2%)	177(97.8%)	0.205	
有	20(2.5%)	7(2.4%)	9(2.8%)	4(2.2%)		
變項名稱	Total	Mini (n=295)	Mod(n=323)	Far (n=182)	χ^2/F	事後比較
	case(n=800)	mean±SD	mean±SD	mean±SD		
	mean±SD	/n(%)	/n(%)	/n(%)		
	/n(%)					

慢性阻塞性

肺病

無	754(96.5%)	280(97.9%)	300(94.9%)	174(97.2%)	4.262
有	27(3.5%)	6(2.1%)	16(5.1%)	5(2.8%)	

*p<0.05 **p<0.01 ***p<0.001

表二、肺結核 x 光片嚴重程度與病患治療情形、痰液狀況之分析

變項名稱	Total (n=800)	Mini (n=295)	Mod(n=323)	Far (n=182)	χ^2/F	事後比較
	mean±SD /n(%) /Median	mean±SD /n(%) /Median	mean±SD /n(%) /Median	mean±SD /n(%) /Median		
H 治療天數	200.80±111.49 4193	180.16±99.83/ 185	199.19±112.8 0/196	237.38±118.4 5/259	51.24***15 .289***	Far>mod far>mini
E 治療天數	166.57±100.28 184	148.70±95.68/ 182	160.33±113.6 7/182	206.29±116.8 3/216	38.02***16 .165***	Far>mod far>mini
R 治療天數	200.48±108.81 195	179.02±92.62/ 185	199.24±114.3 0/196	237.40±113.9 2/266	16.777***5 3.67***	Far>mod far>mini
Z 治療天數	86.67±89.9363	74.09±71.15/6 1	86.95±92.59/ 63	106.68±107.7 7/76	7.075***10 .86***	far>mini
抹片價數						
Negative	346(50.3%)	185(78.1%)	132(46.8%)	29(17.2%)	206.919***	
1+	80(11.6%)	26(11.0%)	39(13.8%)	15(8.9%)		
2+	106(15.4%)	19(8.0%)	42(14.9%)	45(26.6%)		
3+	73(10.6%)	5(2.1%)	32(11.3%)	36(21.3%)		
4+	83(12.1%)	2(0.8%)	37(13.1%)	44(26.0%)		
培養價數						
Scanty	269(56.0%)	9(5.3%)	5(2.8%)	2(1.5%)	35.294***	
1+	50(10.4%)	105(61.4%)	93(52.2%)	55(42.0%)		
2+	21(4.4%)	23(13.5%)	12(6.7%)	15(11.5%)		
3+	28(5.8%)	7(4.1%)	8(4.5%)	6(4.6%)		
4+	112(23.3%)	9(5.3%)	10(5.6%)	9(6.9%)		

變項名稱	Total (n=800)	Mini (n=295)	Mod(n=323)	Far (n=182)	χ^2/F	事後比較
	mean±SD /n(%)	mean±SD /n(%)	mean±SD /n(%)	mean±SD /n(%)		
是否都治						
否	233(29.1%)	119(40.3%)	86(26.6%)	28(15.4%)	35.595***	
是	567(70.9%)	176(59.7%)	237(73.4%)	154(84.6%)		
是否重開						
否	780(97.5%)	292(99.0%)	314(97.2%)	174(95.6%)	5.721*	
是	20(2.5%)	3(1.0%)	9(2.8%)	8(4.4%)		
是否開洞						
否	515(64.4%)	295(100.0%)	195(60.6%)	25(13.7%)	774.095***	
是	139(17.4%)	0(0.0%)	127(39.4%)	12(6.6%)		
開洞>4cm	146(18.3%)	0(0.0%)	0(0.0%)	146(79.8%)		
單、雙側病 灶						
單側	395(49.6%)	263(89.2%)	117(36.2%)	15(8.4%)	360.806***	
<1lobe						
單側	110(13.8%)	2(0.7%)	79(24.5%)	29(16.2%)		
>1lobe						
雙側	292(36.6%)	30(10.2%)	127(39.3%)	135(75.4%)		
抹片陰轉天 數	33.35±59.0141 4	15.49±41.03/1 3.12	30.37±53.60/ 16.50	73.39±77.05/ 75.00	52.996***1 60.96***	Far>mod >mini
培養陰轉時 間點天數	50.82±60.9350 .50	40.48±64.44/2 5.00	54.91±55.50/ 56.00	62.63±61.45/ 69.00	7.446***50 .03***	Far> mini mod>min i

變項名稱	Total (n=800)	Mini (n=295)	Mod(n=323)	Far (n=182)	χ^2/F	事後比較
	mean±SD /n(%)	mean±SD /n(%)	mean±SD /n(%)	mean±SD /n(%)		
治療結果						
完治	788(98.5%)	290(98.3%)	320(99.1%)	178(97.8%)	1.422	
死亡	12(1.5%)	5(1.7%)	3(0.9%)	4(2.2%)		

H: Isoniazide; E: Ethambutol; R: Rifampicin; Z: Pyrazinamide; Far: Far advanced disease; Mod: Moderately advanced disease; Mini: Minimal disease

*p<0.05 **p<0.01 ***p<0.001

表三、肺結核 x 光片嚴重程度與病患臨床症狀、生化資料之分析

變項名稱	Total (n=800)	Mini (n=295)	Mod(n=323)	Far (n=182)	χ^2/F	事後比較
	mean±SD /n(%) /Median	mean±SD /n(%) /Median	mean±SD /n(%) /Median	mean±SD /n(%) /Median		
有無咳嗽						
無	146(20.8%)	80(33.3%)	51(17.5%)	15(8.8%)	39.918** *	
有	557(79.2%)	160(66.7%)	241(82.5%)	156(91.2%)		
有無咳血						
無	528(87.7%)	194(91.5%)	215(85.7%)	119(85.6%)	4.387	
有	74(12.3%)	18(8.5%)	36(14.3%)	20(14.4%)		
有無喘						
無	496(83.2%)	187(90.3%)	206(82.4%)	103(74.1%)	15.910** *	
有	100(16.8%)	20(9.7%)	44(17.6%)	36(25.9%)		
有無胸痛						
無	466(86.1%)	156(87.2%)	193(83.5%)	117(89.3%)	2.555	
有	75(13.9%)	23(12.8%)	38(16.5%)	14(10.7%)		
有無發燒						
無	488(77.6%)	181(83.0%)	208(79.7%)	99(66.0%)	15.956** *	
有	141(22.4%)	37(17.0%)	53(20.3%)	51(34.0%)		
有無體重減						

	Total (n=800)	Mini (n=295)	Mod(n=323)	Far (n=182)	χ^2/F	事後比較
變項名稱	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD		
	/n(%) /Median	/n(%) /Median	/n(%) /Median	/n(%) /Median		
輕						
無	421(68.5%)	177(81.6%)	175(71.7%)	69(44.8%)	58.370**	*
有	194(31.5%)	40(18.4%)	69(28.3%)	85(55.2%)		
有無無故疲						
乏						
無	500(87.0%)	181(90.0%)	204(86.4%)	115(83.3%)	3.348	
有	75(13.0%)	20(10.0%)	32(13.6%)	23(16.7%)		
WBC	5492.37±	4618.06±	5722.51±	6367.15±	29.19***	Far>mini
	6801.006060	8047.27/7210	6100.31/7310	5783.84/9600	3.466*	
Hemoglobin	12.81±	13.21±	12.94±	12.02±	42.71***	Mini>far
	1.9112.90	1.74/13.30	1.97/12.40	1.80/11.35	20.924**	Mod>far
					*	
Platelet (K)	317.72±	271.72±	306.67±	405.05±	63.671**	Far>mod>
	127.01298	101.33/231	111.56/282	142.55/382.5	*111.41*	mini
					**	
ALT	28.25±54.8018	30.24±	27.33±	26.69±	0.2773.2	
		45.62/17.0	55.70/18.00	65.78/20.00	8	
Albumin	3.38±0.643.50	3.56±	3.47±	3.12±	6.70813.	Mini>far
		0.68/3.70	0.56/3.50	0.63/3.35	86**	mod>far
Globlin	3.75±2.213.50	4.29±	3.56±	3.55±	1.2841.3	
		4.01/3.20	1.18/3.40	0.48/3.60	41	
Creatinine	1.04±0.790.90	1.09±	1.03±	0.98±	1.0468.8	
		0.96/1.00	0.72/0.90	0.60/0.90	9*	

變項名稱	Total (n=800)	Mini (n=295)	Mod(n=323)	Far (n=182)	χ^2/F	事後比較
	mean±SD	mean±SD	mean±SD	mean±SD		
	/n(%) /Median	/n(%) /Median	/n(%) /Median	/n(%) /Median		
Calcium	7.98±2.418.50	7.73± 2.44/8.60	7.92± 2.17/8.50	8.20± 2.71/8.65	0.3140.3 6	
HbA1C	8.58±4.108.20	6.68± 2.73/5.90	8.76± 4.82/8.30	9.63± 3.29/9.40	6.55617. 02***	Far>mini mod>mini

Far: Far advanced disease; Mod: Moderately advanced disease; Mini: Minimal disease;

WBC: White blood cells; ALT: Alanine aminotransferase; HbA1c: Glycosylated Hemoglobin

*p<0.05 **p<0.01 ***p<0.001

表四、二個月內痰液陰轉與個變項之 cox 迴歸分析

變項名稱	Total case	Hazard ratio	95%CI		P
	n(%)/mean±SD		lower	upper	
院別					
萬芳	104(14.8%)	1.000			
署桃	71(10.1%)	0.666	0.152	2.930	0.773
署中	127(18.1%)	1.831	0.423	7.923	0.591
署彰	89(12.7%)	2.696	0.222	32.721	0.419
胸腔	263(37.5%)	1.206	0.576	2.524	0.436
慈濟	47(6.7%)	0.666	0.152	2.930	0.619
性別					
男	489(69.8%)	1.000			
女	212(30.2%)	0.757	0.375	1.526	0.436
教育程度					
不識字	77(15.0%)	1.000			
國小	126(24.5%)	0.354*	0.129	0.972	0.044
國中	91(17.7%)	1.266	0.545	2.939	0.583
高中職	128(24.9%)	0.673	0.279	1.622	0.378
大學以上	93(18.1%)	0.909	0.388	2.127	0.826
有無吸菸					
有	267(42.0%)	1.000			
無	368(58.0%)	2.045*	1.065	3.925	0.032
變項名稱	Total	Hazard	95%CI		P

	n(%) / mean±SD	ratio	lower	upper	
糖尿病					
有	158(22.9%)	1.000			
無	531(77.1%)	1.238	0.684	2.243	0.481
ATS 分類法					
Mini	276(39.4%)	1.000			
Mod	281(40.1%)	1.617*	1.824	3.175	0.016
Far	144(20.5)	4.795***	2.156	10.665	0.001
WBC	5660.08±6990.27	1.000	1.000	1.000	0.193
Hemoglobin	12.87±1.91	1.080	0.930	1.255	0.312
Albumin	3.40±0.65	1.156	0.611	2.186	0.657
正常體重範圍	0.90±0.15	0.985	0.154	6.316	0.987

ATS: American Thoracic Society; Far: Far advanced disease; Mod: Moderately advanced disease; Mini: Minimal disease; WBC: White blood cells

*p<0.05 **p<0.01 ***p<0.001

表五、PZA 使用天數與相關變項之分析

變項名稱	使用 PZA<75 天	使用 PZA>75 天)	$\chi^2(p)/t$
	(n=95) n(%) / mean±SD	(n=87) n(%) / mean±SD	
院別			
萬芳	10(12.0%)	7(8.0%)	13.663(0.018) *
署桃	9(10.8%)	16(18.4%)	
署中	16(19.3%)	17(19.5%)	
署彰	12(14.5%)	2(2.3%)	
胸腔	31(37.3%)	43(49.4%)	
慈濟	5(6.0%)	2(2.3%)	
性別			
男女	1820(21.71%)	2020(23.0%)	0.041099(0.83 9753)
男女	6575(78.39%)	67(77.0%)	
年齡			
正常體重範圍%	0.86±0.13	0.85±0.15	0.496
是否都治			
否	1515(1815.18%)	13(14.9%)	0.302025(0.58 2874)
是	6880(8184.92%)	74(85.1%)	
糖尿病			
無	5964(7268.1.0%)	56(64.4%)	1.1200.279(0.2 90.597)
有	2330(2831.9.0%)	31(35.6%)	

變項名稱	使用 PZA<75 天	使用 PZA>75 天)	$\chi^2(p)/t$
	(n=95) n(%) / mean±SD	(n=87) n(%) / mean±SD	
是否開洞			
否	1417(176.9%)	8(9.2%)	2.9363.290(0.230193)
是	7(87.4%)	5(5.7%)	
開洞>4cm	6271(74.7%)	74(85.1%)	
抹片價數			
N	1214(16.7%)	14(16.7%)	4.2978.721(0.073068)
1+	12(1614.37%)	103(3.612.0%)	
2+	2021(2725.08%)	240(283.68%)	
3+	1620(232.82%)	16(19.0%)	
4+	172(20.016.27%)	2427(32.1%28.5)	
抹片陰轉天數	89.52±86.67	94.18±91.03	-0.354
培養陰轉天數	74.19±74.87	79.46±73.07	-0.480
治療結果	54.24±19.94	52.23±16.95	0.737
完治	8092(96.84%)	86(98.9%)	(0.359344)
死亡	3(3.26%)	1(1.1%)	
是否兩年內復發			
否	7990(945.72%)	84(96.6%)	(0.715410)
是	54(5.34.8%)	3(3.4%)	

PZA: Pyrazinamide *<0.05 **p<0.01 ***p<0.001

表六 H 抗藥與是否復發之分析

變項名稱	Total case(n=800) n(%)	無復發(n=780) n(%)	有復發(n=20) n(%)	χ^2
H 抗藥情形				
是	21(2.6)	21(2.7)	0(0.0)	(0.584)
否	779(97.4)	759(97.3)	20(100.0)	

表七、複雜性多重抗藥性結核病收案個案基本資料

個案	性別	分類	年齡	其他疾病
1	男性	新病人	55	塵肺病
2	女性	新病人	32	無
3	男性	再次治療 失敗、復 發	55	酒精性脂肪肝
4	女性	再次治療 失敗、復 發	36	糖尿病、高血壓
5	女性	失落	47	無
6	男性	再次治療 失敗、復 發	53	糖尿病
7	男性	新病人	35	無
8	男性	新病人	45	泌尿及生殖系統結核
9	男性	新病人	79	糖尿病、高血壓

表八、九名個案治療結果 (時間以開始使用 Linezolid 之後計)

個案	抗藥種類	陰轉時間(月)	用藥時間(月)	副作用	副作用處理方式	治療結果
1	H,R,RBT	0.8	15	無		繼續治療中
2	H,R,Z,Mfx,Pto,PAS,Ofx,RBT	N/A	3	手腳麻痛	停用,並已換藥	繼續治療中
3	H,R,E,Ofx,RBT,EA	N/A	3	無		繼續治療中
4	H,R,Z,Mfx,Pto,PAS,Ofx,RBT,EA	N/A	5	貧血,視力模糊	輸血,暫時停藥	繼續治療中
5	H,R,E,SM,RBT,PAS,EA	3	20	貧血,手腳麻木	暫時停藥,減量	繼續治療中
6	H,R,E,SM,Ofx,PAS,RBT,EA	2	22	貧血、血小板低下、暈眩	暫時停藥	完治
7	H,R,E,Z,SM,Ofx,EA,RBT	尚未	1	無		繼續治療中
8	H,R,SM,KM,PAS,EA,RBT	N/A	6	輕微貧血		繼續治療中
9	H,R,E,SM,PAS,EA,RBT,TBN	1	9	貧血、血小板低下	暫時停藥、降低劑量、輸血	死亡

備註: N/A 表示個案在陰轉後或即將陰轉時開始用 Linezolid

附錄

附錄一、抗結核藥物分類

類別	藥物
第一類： 第一線口服藥	<ul style="list-style-type: none"> • Pyrazinamide • Ethambutol • Rifabutin
第二類： 針劑	<ul style="list-style-type: none"> • Kanamycin • Amikacin • Capreomycin • Streptomycin
第三類： Fluoroquinolones	<ul style="list-style-type: none"> • Levofloxacin • Moxifloxacin • Ofloxacin
第四類： 第二線口服藥	<ul style="list-style-type: none"> • Para-aminosalicylic acid(PAS) • Cycloserine • Terizidone • Ethionamide • Protionamide
第五類： 第三線口服藥 不明確抗藥性結核病的治療療效	<ul style="list-style-type: none"> • Clofazimine • Linezolid • Amoxicillinclavulanate • Thioacetazone • Imipenem/cilastatin • High-dose isoniazid • Clarithromycin

附錄二、抗藥性結核病建議劑量

抗藥性結核病建議劑量^[16]

藥物	體重			
	平均一天劑量	33 - 50 kg	51-70 kg	> 70 kg
ORAL				
Ethambutol (E) (400 mg/tab)	25 mg/kg	800-1200 mg	1200-1600 mg	1600-2000 mg
Pyrazinamide (Z) (500 mg/tab)	30-40mg/kg	1000-1750 mg	1750 mg	2000-2500 mg
Levofloxacin (Lfx) (500 mg/tab)	Usual 800 mg	750 mg	750-1000 mg	750-1000 mg
Moxifloxacin (Mfx) (400 mg/tab)	Usual 400 mg	400 mg	400 mg	400 mg
Protionamide (Pto) (250 mg/tab)	15-20 mg/kg	500 mg	750 mg	750-1000 mg
Cycloserine (Cs) 250 mg	15-20 mg/kg	500 mg	750 mg	750-1000 mg
Terizidone (Trd) (250 mg/tcap)	15-20 mg/kg	500 mg	750 mg	750-1000 mg

PASER (4g sachets)	150 mg/kg	8 g	8 g	8-12 g
INJECTION				
Amikacin (AK) (1g/vial)	15-20 mg/kg	500-750 mg	1000 mg	1000 mg
Capreomycin (CM) (1g/vial)	15-20 mg/kg	500-750 mg	1000 mg	1000 mg
Kanamycin (Km) (1gm/vial)	15-20 mg/kg	500-750 mg	1000 mg	1000 mg
Streptomycin (S) (1g/vial)	15-20 mg/kg	500-750 mg	1000 mg	1000 mg
Imipenem (1g/vial)	15-20 mg/kg	500-750 mg	1000 mg	1000 mg

附錄三、複雜性多重抗藥性結核病個案資料表

個案報告表			
受試者編號：			
病人分類： <input type="checkbox"/> 新病人 <input type="checkbox"/> 復發 <input type="checkbox"/> 失落 <input type="checkbox"/> 初次治療失敗 <input type="checkbox"/> 再次治療失敗 <input type="checkbox"/> 其他			
性別： <input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	出生日期：		
居住地：.....縣（市）.....鄉（鎮）（區）			
身高：.....公分	體重：.....公斤	職業：.....	種族：.....
通報日期： 年 月 日	通報時之年齡： 歲		
通報醫院：			
其他狀況： <input type="checkbox"/> 孕婦 <input type="checkbox"/> 哺乳中 <input type="checkbox"/> 服避孕藥 <input type="checkbox"/> 酗酒 <input type="checkbox"/> 吸煙 <input type="checkbox"/> 毒癮			
除結核病外合併有其他疾病： <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/> 是（請勾填下列項目）			
<input type="checkbox"/> 細菌性感染（請註明）：			
<input type="checkbox"/> 肝病（請註明）：			
<input type="checkbox"/> 癌症（請註明）：			
<input type="checkbox"/> 糖尿病			
<input type="checkbox"/> HIV（本項若無檢驗請打 X）：			
<input type="checkbox"/> 腎臟病（請註明）：			
<input type="checkbox"/> 心血管疾病（請註明）：			
<input type="checkbox"/> 其他（請註明）：			

受試者編號：											
日期 (西元年月日)											
用藥天數											
停用藥物種類 (改藥)											
停藥原因 (含改藥)											
停藥天數 (含改藥)											
Zyvox 600mg (LZD)											
Cfz 100mg											
EMB 400mg											
PZA 500mg											
TBN 250mg											
PAS 500mg											
PASER 4gm											
Avelox 400mg											
Cravit 500mg											
Augmentin											
Klaricid											
RBT											
CS 250mg											
Trd											
INH											
RIF											
RFT											
RFN											
SM 1gm											
KM 1gm											
CM 1gm											
Imipenem											
體重											
x 光 (兩月一次)											
抹片 (前兩個月每兩周一次, 之後每月一次)											
培養											
ID/ST											
GOT											
GPT											
T-bil											
BUN											
Cr											
UA											
Na											
AC											
Albumin											
WBC (*10 ³)											
RBC (*10 ⁶)											
Hb											
Plat (*10 ³)											
Potassium											
視力檢查 (至少每月一次)											

二線抗結核藥品使用情形

受試者編號：

二線抗結核藥品使用原因及日期

開始使用二線藥日期.....

多重抗藥性→診斷日期：.....

藥物副作用：無/有 未用藥

- 食慾不振 噁心嘔吐 眼白便黃 視力模糊 紅綠燈分不清楚
胃部不適 腹瀉 容易疲倦 皮膚癢、皮膚起疹
皮膚出現血斑出血點 關節痛 手腳麻木

治療結果： 判定治療結果之日期：.....年.....月.....日

完成治療

改診

失落：治療期間中斷治療兩個月

轉院：轉至其他醫院治療

失敗：治療五個月後依然痰陽性

死亡：治療期間因任何原因死亡

如病人死亡，死亡時除結核病外合併有哪些死因：

細菌性感染（請註明）：

癌症（請註明）：

腎臟病（請註明）：

肝病（請註明）：

心血管疾病（請註明）：

子計畫編號：4-3
子計畫名稱：「不良結核病醫療處方及早介入
改善措施模式」之建立與評估
主持人：邱尚志

摘要

本計畫目的為定義結核病治療異常處方、瞭解國內異常處方的現況、建構異常處方自動篩檢回饋系統，提供未來進一步改善策略時參考之用。希望能藉由本計畫的實施，改善結核病不良藥物的比率，及早發現不良結核病醫療處方，檢討不良藥物可能之影響因子，儘早介入以改善病患的治療成果。並提出改善計畫，希望能對結核病防治工作提供相關建議，減少結核病在台灣存在之威脅。

研究對象分為兩部分，第一部分以與中部疾病管制局第三分局，與中部四縣市衛生局合作，取得中央傳染病追蹤管理系統資料庫之結核病病人，瞭解該資料庫基本特性後，進程式撰寫、系統測試與統計分析。第二部分為利用全民健康保險資料庫找出符合定義之個案（結核病新病人），串連處方醫令明細檔，檢視其處方開立是否符合指引所規範之標準處方。

一般而言，病人之藥物治療應符合結核病藥物指引之規則，本計畫結果看來不符合標準規則比例仍然偏高。期望未來在本程式系統穩定後，能讓第一線醫護人員醫師瞭解不良醫療處方的用藥歷程，包含用藥組合與開藥天數，並透過病歷審查會議，共同討論開立不良藥物處方的原因，以提昇醫療品質、病人用藥安全與結核病完治率。

中文關鍵詞：結核病、不良藥物處方、標準處方、抗結核藥物

Abstract

The purpose of this study is to realize the non-standard TB prescription by the definition of the standard TB regimen from the 4th TB guideline. In addition, we build a software program to screen the database to provide the feasible strategies for improvement from the outcomes. The results from the software can reduce the proportion of non-standard TB prescription and alarm the system in advance to improve the usage. In addition, the TB experts can conceive the useful intervention to improve the effect of existing TB therapy from the findings. The panel discussion also explore the possible the factors and recommend the improvement plan and hope those suggestion can mitigate the TB threat in Taiwan.

Regarding the study purpose, we adopt two databases to compare the validity of the outcomes from the software program. First, CDC in Taiwan provided the enciphered data which included TB patients in center Taiwan from the National Infectious Disease Tracking System. Then, we followed the TB guidelines to build up the software and test it via the CDC database. For comparison, we also use the NHI claim database to chose the new TB cases in 2008 to check the results associate with the standard TB therapy.

Generally speaking, most prescriptions followed the TB guideline. However, there are around 30% classified to the non-standard TB therapy. The proportion is not quite low. After the software program tunes up later, we hope it can help the clinicians to have more instant information related to the non-standard TB prescription including the history, package, days and dosage. Those details and distribution will discuss in the panel discussion. We hope the interventions from the panel discussion which can improve quality and patients safety to boost the TB cure rate.

Keyword: *Tuberculosis, non-standard TB prescription, TB guideline, TB drugs*

壹、前言

一、研究主旨

我國結核病的疫情仍是國民健康的重大威脅，目前結核病病患大多就近前往一般醫療院所治療，就醫可近性對於疾病的早期發現及早期治療有莫大助益，加上都治計畫實施對於結核病防治有一定功效[1]。結核病防治「都治計畫」涵蓋率已愈90%，邁向結核病十年減半之目標。在此狀況下目前仍面臨下列問題：一般醫療院所診療品質不一、困難個案治療及轉介、院內感染、醫療專業人才培育，以及醫療體系與公衛體系連繫配合等問題[2-3]。

國內雖已建立結核病診治指引，提供標準的治療療程，且目前醫院已建立良好院內感染個案監控系統與群突發之調查和控制能力，但實地訪視與資料顯示仍有延誤治療之情形。台灣已於2006年四月開始全面都治計畫，希望所有的痰抹片陽性與培養陽性的病患皆能在關懷員的觀察下服用藥物。然而這些處方是否恰當？這些並不是僅靠關懷員就有能力或有辦法發現，這部份必須結合疾病管制局，各縣市衛生局的專家進行審視與通知，各地方衛生所及關懷員才有辦法發現不良結核病醫療處方，這些不良結核病醫療處方若不及時修正，一方面可能造成副作用，導致病人服藥順從性不佳，另一方面可能造成藥效不彰，導致病患治療失敗，進而產生抗藥情形。

由於治療結核病所需之時間較長，至少半年以上，對於一般人的意志來說是一大考驗，特別是再加上藥物之不良反應，醫師若無適當的溝通及衛教，病患很容易中斷治療[4]。另，醫師若是給予不正確的治療藥物，特別是抗藥性結核菌高發生率的地區，非但無效，且可造成許多慢性開放性結核病患[5]，對結核病的防治而言是必須重視之問題。

台灣在結核病人高死亡率的可能原因可歸類為：錯誤治療結果、老年化年齡結構、合併症等[6]。其中錯誤治療，可能造成部份病人或非病人接受不適當的治療，因此極需研究建立介入不良結核病醫療處方之改善措施。

由於結核病的治療時間相當長，藥物治療處方的良莠與否，直接影響病患的癒後，本計畫將建立不良結核病醫療處方及早介入改善措施之模式並評估其成效。

另一方面係針對多重抗藥與所有接受二線藥物治療的病患，疾病管制局於93年起陸續針對這些病患進行審查，發現一些問題，大部分的醫院並沒有進行二線藥物敏感試驗，醫師治療病患只能依據經驗療法，而除了以往慢防院的醫師之外，普遍皆缺乏經驗，以致病患所接受的處方差異性甚大。而且二線藥物的劑量常常不足，aminoglycoside常常沒有使用，有效的一線藥物並沒有繼續使用。有些在地區醫院也有使用二線藥物在治療多重抗藥病患病患，而治療的醫師本身並非胸腔專科醫師或感染專科醫師，所以及時的藥物治療監測有其必要性。

本計畫前期採資料庫分析方式，將建立異常處方篩選常模方式進行，依據台灣結核病診治指引第四版所建議的處方為標準處方，其他不一樣的處方為異常處方，一旦發現為異常處方時，由研究人員或助理先將異常處方分類，分類為劑量不足，劑量過重，種類不足或種類過多，治療時間過長或過短，另一方面將與疾病管制局合作，運用疾病管制局的資料庫，先建立電腦篩選系統，以期能減輕人力負荷。

在計畫執行中，一方面將聘請審查醫師，由結核治療的資深臨床醫師，做進一步的評估與建議。該建議之後會彙整轉給開藥的醫師，並做雙向的溝通，以期達到早期介入改善之效果，另一方面將利用資料分析，瞭解異常處方的流行病學統計與相關因素，可提供未來進一步改善策略時參考之用。希望能藉由本計畫的實施，改善結核病不良藥物的比率，並檢討不良藥物可能之影響因子，提出改善計畫，希望能對結核病防治工作提供相關建議，減少結核病在台灣存在之威脅。

二、研究背景與現況

結核病一直就是我國公共衛生上的重要議題。知名國際組織 Stop TB Partnership（終止結核夥伴）結合世界各國力量，積極推動全球結核病防治 2006-2015 計畫「The Global Plan To Stop TB 2006-2015」，為與國際接軌，衛生署疾管局研擬「結核病十年減半全民動員計畫草案」[7]，廣納專家學者建言，結合公衛、醫療、檢驗三大網絡，以發現病人（Find TB）、治療病人（Cure TB）為主要策略，並發動民間組織及政府相關部門共同參與結核病防治，並於 2006 年四月開始全台灣的都治計畫，希望所有的痰抹片陽性與培養陽性的病患皆能在關懷員的觀察下服用藥物。然而這些處方是否恰當？這些並不是僅靠關懷員就有能力或有辦法發現，這部份必須結合疾病管制局，各縣市衛生局的專家進行審視與通知，各地方衛生所及關懷員才有辦法發現不良結核病醫療處方，這些不良結核病醫療處方若不及時修正，一方面可能造成副作用，導致病人服藥順從性不佳，另一方面可能造成藥效不佳，導致病患治療失敗，進一步產生抗藥情形。所以這些不良結核病處方，必須及時回饋給各醫療院所與開藥醫師。

目前結核病至少需要六個月的連續治療，如果病人還患有其他重大傷病需延長治療時間 2 至 3 個月。此外，在治療過程上由於藥物種類與錠數較多，常造成病人服藥劑量錯誤，或因選擇性服藥而未完全遵造所開醫囑，其結果會導致治療失敗或者是抗藥性的問題發生[8]。

短期化療大都是以 Isoniazid（INH）、Rifampicin（RMP）、Pyrazinamide（PZA）、Ethambutol（EMB）等四種藥物為主，治療時間由 80 年代的九個月縮短到 90 年代的六個月，若病人規律的按時服藥，治療該疾病之成功率達 95% 以上，復發率則在 5% 以下[9]，而治療的有效性與藥物之副作用、治療所花費的時間和金錢，都會影響病人是否遵從醫囑服藥[10]，由於服藥的期間漫長，藥方複雜，也有產生藥品交互作用（drug interaction）之現象，這些都會導致病人常無法耐心完成療程，這都是在結核病治療上所會面對的阻力[11]。

結核病治療主要利用 Isoniazid（INH, H）、Rifampin（RMP, R）、Pyrazinamide（PZA, Z）、Ethambutol（EMB, E）等四種有效抗結核藥物的合併使用[12]；主要副作用包括引起肝炎、肝毒性以及影響視力、皮膚過敏等，其中又以肝毒性最為常見，更嚴重會有：食慾不振、噁心、嘔吐、皮膚或眼睛變黃、發燒超過 3 天以上、腹痛、手指或腳指有刺痛感、皮膚起疹子、容易出血、暈眩、嘴巴周圍有刺痛感或麻痺感、皮膚容易瘀青、視力模糊或聽力喪失等。常見的使用抗結核病藥物引發急性肝臟損傷，如果是病毒性肝炎帶原者使用一般劑量但可能因患者為病毒性肝炎帶原者而發生。藥物交互作用則為 rifampin 促進 cyt-P450 作用使得 isoniazid 於短時間內被大量代謝而產生過量且具肝臟毒性之中間產物。另一種基因多型性，isoniazid 之中間代謝產物生成量與氧化酶之活性有關，用藥時多注意可減少藥物性肝炎之發生[13-14]。

目前要安全又有效的治療，端賴臨床醫師能於治療過程中密切追蹤，發生藥物副作用時適當處置，並依病人情況調整藥物組合。然而，許多第一線醫師缺乏相關教育訓練與經驗，因此較無法處理結核藥物副作用及多重抗藥性結核之能力，醫療品質仍有待改善。

過去研究指出，肺結核治療成敗的關鍵在於患者持續服藥的遵從性，假若患者沒有遵從醫囑，不僅藥效無法發揮[15-16]，並且可能因此產生續發性抗藥性結核菌。在一全國性的調查中，以疾病管制局 2001 年 1-12 月所登錄的肺結核患者，針對完治及未完治病患，以電話訪問方式了解其是否完成肺結核治療之相關因素，結果發現「吃了很不舒服」、「感覺身體已經好轉」、「藥的種類太多」所佔比例很高，且在治療過程中，最令肺結核病患感到困擾的事情依序為「有副作用」、「治療時間太長」、「服藥次數太多」、「藥太難吃」，顯示病患常常容易因為與藥物有關的問題及對持續治療不能中斷的認知不足，而導致其未完成肺結核治療。未完成治療不但是影響國內結核病防治的重大因素，同時也增加防疫與治療上的困難，因此在這樣的狀況下，即使是透過高成本的都治施行也因個案狀況不同，實際施行成果仍有缺失。

在結核病的治療上，最重要的因素是服藥遵從性[17]，有研究發現，其中中斷治療者佔 16.1%，而行蹤不明者佔 14.7%，是以中斷治療比率較高[18]，而由 2002 至 2004 年之結核病資料庫統計資料顯示，目前完治個案亦只有一半，而行蹤不明及死亡約佔了五分之一。病人假如尊醫囑性高，不僅有效降低其死亡率與傳染力，也會提高其生活品質，因此世界衛生組織覺得都治計畫是最具成本效益價值的計畫，都治計畫開始於 1995 年，知名國際組織 Stop TB Partnership（終止結核夥伴）推薦之全球結核病防治計畫「The Global Plan To Stop TB 2006-2015」，在 2015 年時，制止並開始扭轉結核病的發病率[19]增長世界衛生組織建議各國推行 DOTS 策略（Directly Observed Treatment, Short course，台灣譯作都治），希望能夠發現 75%痰塗片陽性結核病患，並且治癒其中 85%的病患[20]。

一般所謂藥物不良反應 Adverse drug reaction (ADR) 系指使用藥物產生非預期(unexpected)、非意欲(unintended)、非期待(undesired)、或過度反應，通常產生不良藥物反應時，處理方式為下列幾種：1.需要停藥(不論是治療或診斷)，2.需要更改藥物治療，3.需要調整藥物劑量(輕微的劑量調整除外)，4.嚴重必須住院。為了預防藥物不良反應，採用反應監測與回報之方式：方法一：自願性回報系統，係運用設計好的表格方式，當臨床醫療人員懷疑有 ADR 時，填寫好表格完整資料後交給藥局。這種方式的優點是記錄較完整，不過缺點是無法照顧到所有病人可能發生的藥物問題。方法二：回顧性病歷審查，回顧病歷方式可以找出一些 ADR，但通常需耗費很多人力及時間，發現 ADR 可能沒有預期數量，記錄可能不完整，而很難確認因果關係。方法三：前瞻性監測(包括探查及預防)，採用這種方式可針對某一種藥品或某治療方式的病人進行監測，若是針對某一種藥品，可對使用此藥品的所有病人進行監測。如果需採行 ADR 自動通報系統，成功的

先決條件需建立於保密、持續監控、持續教育與回饋[21-22]。

醫療人員應該瞭解導致 ADR 發生的危險因子，進而協助預防 ADR，主要發生 ADR 的原因可能為缺乏對藥品的認知；處置錯誤；對病人情況（年齡、懷孕、授乳）、疾病診斷及嚴重藥品過敏與副作用史未能掌握清楚；藥品本身交互作用；使用的藥品種類增加；藥動學與藥效學的改變。因此培養具偵測及追蹤 ADR 的能力，採用醫囑之警訊，高危險病人器官功能的監測與高危險藥品的藥動學監測，會有助於改善不良藥品情形之發生。

病患不按時服藥和處方不適當是產生抗藥性結核菌的兩大因素。抗結核病處方設計以最安全有效的治療方式，在最短時間內，迅速殺滅正在增殖的結核菌，降低傳染性，並持續殺滅潛伏性結核菌，杜絕疾病復發。一個處方通常有二種以上的抗結核病藥併用，另外發現有些申請為慢開病患，之前所接受的二線藥物治療本身並不適當，有些劑量不夠，有些藥物治療總數不夠，究其原因皆在於沒有一個好的一線及二線藥物敏感試驗來提供醫師治療這些多重抗藥病患[23]。所以疾病管制局更進一步規劃於 2007 年四月實施之建構 MDR 結核病醫療體系-都治進階 (DOTS-Plus) 專案照護，希望將來一旦有多重抗藥病患，各醫院(包含醫學中心及其他各級醫院)必須轉介至此一 MDR 結核病醫療體系進行二線藥物的藥物敏感試驗及二線藥物的治療。另外除了多重抗藥肺結核之外，若對於 quinolone 及 aminoglycoside 抗藥者又特別稱為 XDR-TB，目前對於台灣 XDR-TB 的比率及治療現況也必須進一步加以研究與了解。而這些 MDR 或 XDR 結核病患的接觸者也必須密切追蹤，以觀察是否有發病的情形。本計畫也將對這些多重抗藥肺結核進行評估，不過將與一般病患分開統計。

診療醫師在治療多重抗藥結核病人時，除應掌握其藥敏試驗結果，審慎推敲 (Tailor) 出適合的處方之外，更應該深入探究病人治療失敗的原因來自醫師或病人的問題。病人治療失敗的原因探究，是為了要確保病人此次治療能夠不再發生相同的錯誤，好好把握最後一次治好結核病的機會對於醫療機構而言，所有疑似結核病患者都應儘速確認，並訂定適當的治療策略，投與適當的治療藥物，定期檢視病患，整合醫療團隊(醫師、護理人員、社工人員、個管師或關懷員)提供病患必要協助，以期增加結核病患抗結核藥物之順從性，並使結核病患完成治療。

三、研究目的

本計畫研究目的如下：

- (一) 定義結核病治療異常處方。
- (二) 瞭解國內異常處方的現況。
- (三) 建構異常處方自動篩檢回饋系統。

貳、材料與方法

一、研究對象

主要研究對象分為兩大部分，第一部分以中部縣市為主，首先與中部疾病管制局第三分局，與中部四縣市衛生局合作，取得中央傳染病追蹤管理系統資料庫之結核病病人，瞭解該資料庫基本特性後，進行程式撰寫、系統測試與統計分析。我們希望以結核病新個案為主要研究對象，將有治療中結核病患的處方，先區分為一般病患與多重抗藥病患，疾病分類分為肺結核與肺外結核(特別是結核性腦膜炎與骨關節結核有神經壓迫者須延長治療至 12 個月，其餘皆為 6-9 個月)，依據病患的診斷與體重，加以篩檢，分為標準處方與異常處方。

除中央傳染病追蹤管理系統資料庫之外，擬利用全民健康保險資料庫找出符合定義之個案(結核病新病人)，串連處方醫令明細檔，檢視其處方開立是否符合指引所規範之標準處方。

病患的用藥資料，屬於個人隱私，而為了公共衛生的目的，在疾管局的資料庫中，由各醫院的個案管理師，負責將資料上傳，所以可以找到病患及時的訊息。而要及時發現不良處方，也必須與疾病管制局合作，才有辦法發現，並即時回饋。本計畫遵循保密原則，資料處理與運用皆採用離線方式處理，且計畫參與人員均遵守個人資訊安全保密相關規定，以確保病人隱私。

二、研究設計

本計畫採用 PDCA 的精神進行，首先找出(1)符合定義之個案，(2)分析其不良處方的原因，(3)建立篩選不良處方常模方式，(4)組織專家審查會議，依據專家建議通知開藥的醫師，並做雙向的溝通，最後，檢討是否有(5)達成減少不良處方之效果。

首先在中央傳染病追蹤管理系統資料庫方面，依據病人的診斷與體重，加以篩檢，分為標準處方與異常處方，異常處方中若因副作用而作調整，屬於正常調整，並非不良處方，不良處方的定義為劑量不足，劑量過重，種類不足或種類過多，治療時間過長或過短。

依據結核病防治手冊為基準，並參酌臨床醫師意見及資料庫分析結果，運用資料庫分析方式，建立資料運行模式，建立電腦篩選異常處方原則，並與相關專家討論其應用範圍。若有不良處方的情形，將進行專家討論會議，討論產生不良處方的原因。

健保資料庫方面，為分析 2008 年結核病新病人用藥歷程。其方式為將全民健保處方及治療明細檔、處方及治療醫令明細檔、承保檔進行串連，並依據

ICD9-CM 為 010 至 01896 挑選出診斷為結核病之個案，並排除 2007 年有結核病診斷、20 歲以下者、未接受治療者、開藥天數為 0 天者、僅接受一次治療者。結核病新病人確定後，再進行用藥組合之分析。

本計畫將試著建立自動篩檢系統，由電腦系統自動帶出異常處方，再由助理協助審查醫師，進行分類與建議。希望能及早發現不良結核病醫療處方，並儘早介入以改善病患的治療成果。

三、研究變項與操作型定義

(一) 中央傳染病追蹤管理系統資料庫與程式設計

主要研究變項以 P_ID 和 Rec_No 為依據，觀察病人用藥歷程（包含用藥和領藥天數）。爾後進行藥物最大劑量（MAX）的計算＝顆數×頻次×劑量，以及依據病人體重(KG)×每日建議劑量(MG)，進行不良醫療處方篩選。研究變項如附錄一。

根據結核病診治指引第四版和協同主持人討論後，將規則整理如下：

1. 大分類

(1) 凡非 INH、RMP、PZA、EMB、(SM) 皆屬於第二線用藥。

(2) RFT (Rifater), RFN (Rifinah) 屬於第一線藥複方。

2. 標準處方

(1) package 1-New Case

先 INH+RMP+PZA+EMB 2 個月，再 INH+RMP+EMB 4 個月

2 個月

INH	+	RMP	+	EMB	+	PZA
		rifater			+	EMB
		rifinah		+	EMB	+
					+	PZA
INH	+	RMP	+	PZA →(藥敏)		

4 個月

INH	+	RMP	+	EMB		
		rifinah		+	EMB	
INH	+	RMP				→(藥敏)
		rifinah				

時間規則 28 或 7 天為單位

- 2 個月 = 56-60 (28+28+各兩天容忍期)，小於 56 天為不符合時間規則。
- 4 個月 = 112-120 (28*4+各兩天容忍期)，小於 112 天為不符合時間規則。
- INH+RMP+EMB 4 個月，如果僅未開 EMB 請先駐記(臨床上視同標準處方)。

(2) package 2-再復發病人

先 INH+RMP+ PZA+EMB+SM，2 個月

再 INH+RMP+PZA+EMB，1 個月

再 INH+RMP+EMB，5 個月

2 個月

INH	+	RMP	+	PZA	+	EMB	+	SM
		rifater			+	EMB	+	SM
		rifinah	+	PZA	+	EMB	+	SM

1 個月

INH	+	RMP	+	PZA	+	EMB
		rifater			+	EMB
		rifinah	+	PZA	+	EMB

5 個月

INH	+	RMP			+	EMB
		rifinah			+	EMB

時間規則 28 或 7 天為單位

- 2 個月 = 56-60 (28+28+各兩天容忍期)，小於 56 天為不符合時間規則。
- 1 個月 = 28-30 (28+兩天容忍期)，小於 28 天為不符合時間規則。
- 5 個月 = 140-150 (28*5+各兩天容忍期)，小於 140 天為不符合時間規則。

3.劑量

$$V1_{(顆數)} \times V2_{(頻次)} \times V3_{(劑量)} = \text{Max}$$

藥物	規則1 (V3_ N)	
單方藥物(縮寫)	Tab	注射
isoniazid (INH)	100mg	
rifampin (RMP)	150mg, 300mg	
pyrazinamide (PZA)	500mg	
ethambutol (EMB)	400mg	
streptomycin (SM)		500-700mg(50KG以下) 750-1000mg
複方藥物		
Rifinah (RFN)150	150mg (3)	
Rifinah (RFN)300	300mg (2)	
Rifater (RFT)	成人依體重每增加10 kg，加服1錠，每日最多 <u>5</u> 錠	

藥物	規則2	參考1*
單方藥物(縮寫)	Max (最大劑量)	
isoniazid (INH)	Max: 300 mg	<u>5</u> -10 mg /KG
rifampin (RMP)	Max: 600 mg	<u>10</u> mg /KG
pyrazinamide (PZA)	Max: 2000 mg	15-30 (<u>25</u>) mg /KG
ethambutol(EMB)	Max:1600 mg	10-20 (<u>15</u>) mg /KG
streptomycin(SM)	Max: 1000 mg	15 mg /KG
複方藥物		
Rifinah (RFN)150	50Kg 以下 3錠	
Rifinah (RFN)300		50Kg 以上 2錠
Rifater (RFT)	成人依體重每增加10 kg，加服1錠，每日最多 <u>5</u> 錠	

*底線表示本研究採取計算的標準

4.劑量與體重方面

(1) 計算資料庫研究對象之藥物應開實際上的最大劑量（實際 MAX=顆數×頻次×劑量）。頻次計算方式：

QD 每天一次 ×1； BID 每天二次 ×2； TID 每天三次 ×3； QID 每天四次 ×4； QOD 每隔一天一次 ÷2； TIW 每週三次 ×3÷7。

(2) 根據指引中之 MAX 規則(如下)，歸納出容許的 MAX，並與實際 MAX 比對後，抓出不符合 MAX 之資料，意指凡超過最大劑量且不符合容許的 MAX 即為不符合。

單方藥物(縮寫)	Max (最大劑量)	容許的MAX
Isoniazid(INH)	Max: 300 mg	50,100,150,200,250,300
Rifampin(RMP)	Max: 600 mg	75,150,225,300,375,450,525,600
Pyrazinamide(PZA)	Max: 2000 mg	125,250,375,500,625,750,875,1000,1125,1250,1375,1500,1625,1750,1875,2000
Ethambutol(EMB)	Max:1600 mg	125,200,250,375,400,500,600,625,750,800,875,1000,1125,1200,1250,1375,1400,1500,1600
Streptomycin(SM)	Max: 1000 mg	500-700(50kg以下) 750-1000(50kg以上)
複方藥物(縮寫)	Max (最大劑量)	容許的MAX
Rifinah (RFN)150	50Kg以下3錠 = 150*3=450	75,150,225,300,375,450
Rifinah (RFN)300	50Kg以上2錠 =300*2=600	150,300,450,600
Rifater (RFT)	成人依體重每增加10 kg，加服1錠，每日最多5錠 450*5=2250	225,450,675,900,1125,1350,1575,1800,2025,2250

(3) 依據研究對象之體重(KG)計算應開立之藥物劑量(KG* Tab)。

單方藥物(縮寫)	KG* Tab
Isoniazid(INH)	KG*5
Rifampin(RMP)	KG*10
Pyrazinamide(PZA)	KG*25
Ethambutol(EMB)	KG*15
Streptomycin(SM)	KG*15
複方藥物(縮寫)	KG* Tab
Rifinah (RFN)150	KG*10
Rifinah (RFN)300	KG*10
Rifater (RFT)	KG*45

*非容忍範圍即為不合理。

單方藥物(縮寫)	容忍範圍	
	下限	上限
Isoniazid(INH)	KG*5	容許的MAX
Rifampin(RMP)	KG*10	容許的MAX
Pyrazinamide(PZA)	KG*25	容許的MAX
Ethambutol(EMB)	KG*15	容許的MAX
Streptomycin(SM)	KG*15	容許的MAX
複方藥物(縮寫)	容忍範圍	
	下限	上限
Rifinah (RFN)150	KG*10	容許的MAX
Rifinah (RFN)300	KG*10	容許的MAX
Rifater (RFT)	KG*45	容許的MAX

(4) 抓出非容忍範圍之劑量，意即凡與資料未在第三步驟之容忍範圍即為不標準之劑量。

本計畫程式設計方面主要為 VB(Visual Basic)，將用藥組合依不同類別分別定義為 Package1-1a、Package1-1b 等，以利系統進行測試，如下所示：

1. package 1-New Case

先 INH+RMP+PZA+EMB 2 個月，再 INH+RMP+EMB 4 個月

2 個月

Package1-1a	INH	+	RMP	+	EMB	+	PZA
Package1-1b			rifater			+	EMB
Package1-1c			rifinah	+	EMB	+	PZA
Package1-1d	INH	+	RMP	+			PZA →(藥敏)

4 個月

Package1-2a	INH	+	RMP	+			EMB
Package1-2b			rifinah	+			EMB
Package1-2c	INH	+	RMP				→(藥敏)
Package1-2d			rifinah				

2. package 2-再復發病人

先 INH+RMP+ PZA+EMB+SM，2 個月

再 INH+RMP+PZA+EMB，1 個月

再 INH+RMP+EMB，5 個月

2 個月

Package2-1a	INH + RMP + PZA + EMB + SM
Package2-1b	rifater + EMB + SM
Package2-1c	rifinah + PZA + EMB + SM

1 個月

Package2-2a	INH + RMP + PZA + EMB
Package2-2b	rifater + EMB
Package2-2c	rifinah + PZA + EMB

5 個月

Package2-3a	INH + RMP + EMB
Package2-3b	rifinah + EMB

其程式執行之主要流程如下：

- (8) 確定用藥組合，留下所需欄位。
- (9) 除錯，進行數字或文字修改。
- (10) 除錯，挑出所需欄位可能的錯誤，並註解。
- (11) 使用剩餘之正確資料計算容忍範圍，並計算處方是否標準。
- (12) 用標準處方劑量計算實際用藥天數。
- (13) 計算各組合是否有達到標準（標準處方與不標準處方）。
- (14) 完成初步結果。

(二) 健保資料庫

本計畫之個案為 2008 年依據 ICD9-CM 為 010 至 01896，挑選出結核病之病人，並排除 2007 年有結核病診斷（為避免選到再復發病人）、20 歲以下者（因健保資料庫無法提供病人體重資料，為避免年紀較小之病人可能會影響後續研究之藥物頻次、劑量等結果，故本計畫之研究對象針對 20 歲以上成年人為主）、未接受治療者、開藥天數為 0 天者（亦即病人正住院中）、僅接受一次治療者。排除以上因素後，篩選出結核病新病人，進行人口特型與用藥組合之分析。其研究變項如附錄二。

四、資料分析

本計畫資料分析以 VB 與 SPSS17.0 統計套裝軟體做為資料處理以及分析的工具，係以不良處方之流行病學分析為主，包括不良處方出現頻率、原因（分類），病人相關因素。

參、結果

一、中央傳染病追蹤管理系統資料庫之描述性統計

初步的描述性統計分析，在中央傳染病追蹤管理系統資料庫中，研究樣本在未歸人前，共有 30,291 筆。就醫資料時間範圍為 2002 年 7 月 1 日至 2011 年 12 月 30 日。住院方面，其範圍為 1998 年 1 月 12 日至 2011 年 12 月 17 日，然經過與專家討論後，出現未來時間的觀察值將另行挑出，不列入程式系統分析。

表 3-1-1 為開藥天數分布情形，其範圍為 1 天至 90 天，平均開藥天數為 19.5 天。從表 3-1-1 可以得知，有 70% 開藥天數為 28 天以下（包含 28 天）。此外，部分病患開藥天數達 90 天，根據詢問專家與疾管局應為病人可能出國前取藥，強迫系統登錄所致。

由表 3-1-2 第一線用藥次數分配可以得知，開 INH 藥有 5,767 筆，開 RMP 藥有 5,306 筆，開 PZA 藥有 6,854 筆，開 EMB 藥有 22,628 筆，開 SM 藥有 904 筆，開 RFT 藥有 6,691 筆，開 RFN 藥有 14,133 筆。由以上資料可知大部分的醫師較喜歡都開複方藥物給病人。

醫療利用情形方面，由表 3-1-3 可以得知該資料庫 73.1% 為門診醫療利用，23.2% 為住院中。

研究樣本體重資訊方面，表 3-1-4 為排除體重為 610 公斤（應為誤植）個案後其描述性統計之結果，體重最輕為 3 公斤，最重為 110 公斤，平均 55.1 公斤。進一步將體重分為 50 公斤以上及 50 公斤以下如表 3-1-5，結果顯示 60.3% 的病人體重在 50 公斤以上，只有 28.3% 的病人體重在 50 公斤以下。

在第一線用藥之顆數與劑量交叉表顯示，INH 顆數為 100 顆、劑量為 2mg，RMP 顆數為 150 顆、劑量為 4mg，PZA 顆數為 500 顆、劑量為 3mg，EMB 顆數為 25 顆，為不合理之用藥資料（如表 3-1-6、表 3-1-7、表 3-1-8、表 3-1-9）。分布情形方面（如表 3-1-6 至表 3-1-12），INH 以劑量為 100mg、顆數為 3 顆之分布情形最多（4,198 筆）。RMP 以劑量為 300mg、顆數為 2 顆之分布情形最多（1,733 筆）。PZA 以劑量為 500mg、顆數為 3 顆之分布情形最多（3,666 筆）。EMB 以劑量為 400mg、顆數為 2 顆之分布情形最多（17,600 筆）。SM 以劑量為 750mg 之分布情形最多（385 筆）。RFT 以顆數為 5 顆之分布情形最多（4,586 筆）。RFN 以劑量為 300mg、顆數為 2 顆之分布情形最多（11,217 筆）。由分布情形可看出大部分第一線抗結核藥物皆符合第四版指引之劑量規則。

在第一線用藥頻次方面，均以 QD（每日一次）最多（如表 3-1-13）。

除以上資料庫之描述性統計結果外，我們進行開藥欄位是否完整性檢視，亦即當有開該藥物時，其藥物之顆數、頻次與劑量是否亦有登記（如表 3-1-14）。結果顯示 INH 完整性為 92.43%，RMP 完整性為 90.17%，PZA 完整性為 93.54%，

EMB 完整性為 94.54%，SM 完整性為 85.59%，RFT 完整性為 84.91%，RFN 完整性為 95.11%。以上資料顯示，就開藥欄位之完整性佳而言，大部分都有完整。

除檢視完整性外，在使用程式系統測試之前，亦先了解第一線用藥之最大劑量（MAX）與體重分類之分布，其超過每日建議劑量之情形為何（表3-1-15至3-1-28）。結果顯示INH超過300mg有0.76%、37人次，RMP超過600mg有0.51%、23人次，PZA超過2000mg有0.1%、5人次，EMB超過1600mg有0.02%、5人次，SM未超過最大劑量1000mg，RFT超過5錠(2250mg)有10.27%、57人次，RFN超過600mg有0.27%、35人次，這部分雖然次數不多，但超過劑量所帶來藥物副作用與影響仍須考量，衛生主管機關應加以注意與提醒第一線醫師在高劑量使用的風險。

用藥組合方面，分為兩部分，第一部分為扣除第二線用藥之用藥組合（亦即只有第一線用藥之用藥組合），歸入後，並扣除遺漏值，共有 2,871 人，以 2 種組合所占比例最高，占 39.5%（如表 3-1-29）。

第二部分之用藥組合為不排除第二線用藥之組合，亦及此資料庫之結核病完整用藥組合，歸入後，並扣除遺漏值，共有 2,872 人，亦以 2 種組合所占比例最高，占 39.1%（如表 3-1-30）。

最後為用藥組合分布情形（如表3-1-31），歸入後共有3,275人、7,647筆資料，符合標準處方之開藥比例為71.08%，顯示大部分用藥組合符合第四版結核病用藥指引。符合標準處方之用藥組合以EMB+RFT之次數最多，共1,743次（19.39%）。符合標準處方之用藥組合以INH+RMP+PZA+EMB+SM之次數最少，共18次（0.20%）。不符合標準處方之用藥組合方面，以INH+EMB之次數最多，共133次（1.48%）。

二、程式設計

VB (Visual Basic)【程式內容如附錄六】

主要結果分為十個部分，如下所示：

1. 用藥組合（如表 3-2-1）

用藥組合分布情形中，21.99%為 Error Package。

2. Days Error

此為用藥天數為 0 天之 Error，有 26.8%為 Error（含住院醫療利用的部分）。

3. Max Amount Error（如表 3-2-2）

此為第一線藥物之最大劑量與實際開藥之劑量不符合之結果，共有 111 筆

Error。其中以 Package2-3b、RFT Error 最多，占 51.4%。

4. Min Amount by Weight Error (如表 3-2-3)

此為依據研究對象之體重 (KG) 計算應開立之藥物劑量 (KG* Tab) 與實際開藥不符合之結果，共有 11,251 筆 Error。其中以 Package2-2b、EMB Error 最多，占 31.7%。另，如有研究對象之多筆資料中，其體重若為 0 KG，則會以平均體重計算之。

5. Package Error

此為用藥組合與用藥天數不符合規則之結果，該資料庫共有 1,756 筆 Package Error。

6. Sort P_id Date Package Flow Error

此為排序 P_ID、就醫日期後，Package Flow Error 的結果，該資料庫共有 12,835 筆 Sort P_id Date Package Flow Error。

7. V1 Max File Error (如表 3-2-4)

V1 為第一線用藥顆數。此為用藥顆數不合理之結果，共有 39 筆 Error。其中以 RFN 最多，占 82.1%。

8. V1 V2 V3 Empty Error (如表 3-2-5)

V1 為第一線用藥顆數，V2 為頻次，V3 為劑量。此為 V1 (顆數) × V2 (頻次) × V3 (劑量)，其值出現空白之結果，共有 14,470 筆 Error。然 SM 為針劑，故無 V1 (顆數) 之值不為 Error。其中以 RFN Error 最多，占 49.3%。

9. V3 Min File Error (如表 3-2-6)

此為不符合容許的最大劑量之結果，共有 184 筆 Error。其中以 RFN Error 最多，占 84.2%。

值得一提的是，因 RFN 劑量分為 150mg 和 300mg，必須依據研究對象體重判斷，因此 RFN 特別加入體重為小於等於 50KG 和大於 50KG 之條件，故若無體重資料，亦會顯示該筆資訊為 Error。

10. Weight Error

此為體重不合理之結果，僅有一筆 Error，為 610KG。

三、健保資料庫之結果

依據 ICD9-CM 為 010 至 01896，挑選出 2008 年結核病之病人，共有 46,870 人；排除 2007 年有結核病診斷者之後，有 30,739 人為 2008 年結核病新病人；排除 20 歲以下病人之後，剩下 25,157 人為 20 歲以上之結核病病人；接著排除未接受治療者，剩下 18,716 人為有接受結核病相關處置者；再排除開藥天數為 0 天者，因此有接受結核病治療且開藥天數大於 0 天者為 14,465 人；最後排除僅接受一次治療者，故納入分析的 2008 年新病人為 11,164 人。

首先在人口學特性方面(如表 3-3-1)，本研究樣本共有 11,164 人，男性 7,436 人(66.6%)，女性 3,577 人(32.0%)。可見結核病病人男性多於女性。年齡方面，以 70 歲以上人數最多，共 4,281 人(38.3%)，20 歲至 29 歲人數最少，共 845 人(7.6%)。投保金額分級方面，以 16,500 元至 28,800 元人數最多，共 4,370 人(39.1%)，大於等於 60,801 元人數最少，共 162 人(1.5%)。投保地區方面，以台北區人數對多，共 3,183 人(28.5%)，東區人數最少，共 560 人(5.0%)。都市化程度方面，以都市化程度高占最多，共 6,829 人(61.2%)。

醫療利用方面(如表 3-3-2)，一年內結核病新病人有關之治療次數最少 2 次，最多 66 次，平均治療 11.47 次。而有關之治療費用方面，最少為 163.4 元，最多為 33,326.2 元，平均費用為 1740.4 元。

依據第四版結核病診治指引，將標準處方分為前兩個月和後四個月兩部分，用以瞭解實際開立處方情形(如表 3-3-3)。故 2008 年結核病新病人，前兩個月符合標準處方之用藥組合以 EMB+RFT 之次數最多，共 12,648 次(44.71%)，符合標準處方之用藥組合以 INH+RMP+PZA+EMB+SM 之次數最少，共 9 次(0.03%)。而符合標準處方占 79.97%，顯示大部分用藥組合符合第四版結核病用藥指引。在不符合標準處方之用藥組合方面，以 EMB 之次數最多，共 1,363 次(4.82%)。INH+RFT、INH+RMP+EMB+SM 與 INH+SM 之次數最少，分別為 6 次(0.02%、0.02%、0.02%)。

後四個月方面(如表 3-3-4)，僅有 RFN 符合標準處方，共 18,134 次(27.39%)。不符合標準處方，以 EMB 之次數最多，共 27,593 次(41.68%)。

肆、討論

一、重要研究結果之討論

(一) 中央傳染病追蹤管理系統與程式設計

本研究主要針對中央傳染病追蹤管理系統之資料，採用系統執行後結果進行檢討。首先，其資料庫的完整性略為不足，如缺乏藥物敏感試驗資料、體重或病人相關資訊（新病人或復發），然對結核病的診斷與治療而言，結核菌藥物敏感性試驗非常重要，目前程式未寫入藥物敏感試驗之欄位，因此日後系統如能加入藥敏試驗資料，對於判斷某些處方使用能更為明確，也能將更完整分析結果提供第一線醫療團隊使用。

針對用藥歷程方面，進行用藥組合是否符合標準處方之結果發現，大約有 3 成左右不符合標準處方，推測可能原因為臨床上實際遇到的情形較為複雜，需考量病人身體因素，臨床醫師會依病人身體狀況，進行開藥之調整，然本資料庫無更詳細資料進行判斷，另外，提供樣本資料庫本身依然有許多限制，因此引用本研究相關數據時請謹慎考量。此外，與專家討論後，進行「非標準處方，但仍可接受」之用藥組合調查（問卷如附錄三，結果如附錄四），未來將把「非標準處方，但仍可接受」之用藥組合，請專家評估後，再寫入程式，進行測試，但目前因時間上的關係，並未執行系統測試。

(二) 健保資料庫

除中央傳染病追蹤管理系統與程式設計外，我們亦申請健康加值中心之健保資料庫，試圖瞭解 2008 年結核病新病人用藥歷程。經排除 2007 年有結核病診斷、20 歲以下者、未接受治療者、開藥天數為 0 天者與僅接受一次治療者之後，其新病人數有 11,164 人，此人數與疾病管制局之台灣結核病防治年報之 2008 年新案人數相去不遠（14,265 人）。人口學方面，本研究以男性人數最多、年齡越高人數越多、台北區人數最多，該結果亦與年報結果相似[24-25]，顯示健保資料庫之結果極有參考價值。

用藥組合方面，健保資料庫之用藥組合在標準處方方面以 EMB+RFT 之次數最多，而中央傳染病追蹤管理系統資料庫之用藥組合在標準處方方面以 EMB+RFT 之次數最多，兩資料庫之結果皆以 EMB+RFT 之次數最多，顯示其結果一致，但因背景資料不同，故僅能做為參考。除此之外，大約有 2 成左右不符合標準處方，而中央傳染病追蹤系統資料庫約 3 成左右不符合標準處方，因此不符合標準處方大約介於 2 至 3 成左右，可能的因素較為如前段所言，需進一步追蹤研究，因尚未明確，故引用本研究相關數據時請謹慎考量。

二、綜合討論

本節綜合討論係指本計畫所舉辦之會議討論資訊。本計畫執行迄今共舉行七次會議，五場為個別與協同主持人討論之會議，一場為內部會議暨專家座談，意即聘請專家與各協同主持人進行會議討論，另一場為與各協同主持人之內部會議。其詳細會議紀錄內容如附錄五。

為瞭解本計畫研究對象之用藥歷程，與黃丞正醫師進行訪談，確認結核病診治指引第四版之第一線抗結核藥物與標準處方之資訊及不良處方之定義。其次，分別與沈光漢醫師和黃伊文主任討論研究對象之分類，為新病人與再復發病人，因此標準處方方面，packages 有兩種。並且進行規則確認，大分類下，分為第一線抗結核藥物與第二線抗結核藥物。開藥方面，以一般門診一般開藥習慣為 28 或 7 天為參考標準，因此以上述為單位較適當（以 28 天或 7 天為單位），方式建議以範圍呈現較佳。

爾後進行內部會議暨專家座談，報告計畫進度與初步結果及討論計畫執行時所遇到的問題：1. 確認用藥分類、標準處方 (package1, package2) 與劑量的規則。2. 說明中央傳染病追蹤管理系統資料庫 TB 用藥情形之描述性統計。3. 說明 TB 用藥組合之分布情形。4. 說明程式設計的部分。並討論用藥分類、標準處方與劑量規則是否適當、中央傳染病追蹤管理系統欄位資訊有異之處理方式、用藥組合符合標準處方和不符合標準處方之分布情形。

另一場內部會議則是討論執行計畫之初步研究結果，包含第一線用藥最大劑量與體重分類、標準處方分布、程式方面與健保資料庫分析之結果、中央傳染病追蹤管理系統資料庫除錯部分如體重資料、用藥顆數、packages、中央傳染病追蹤管理系統資料庫劑量與體重方面之計算方式。

值得一提的是，楊主任在會議中提出先前所整理的結核病用藥組合之資料，有部分的資訊不太明確，研究主持人表示，因原先現有的資料庫為測試程式之資料，故就醫紀錄會不完整，已向疾病管制局申請 2008 年完整就醫紀錄之資料，分別進行橫斷面研究與世代研究 (cohort study)。

三、研究限制

本計畫之研究限制如下：

- 一、中央傳染病追蹤管理系統之資料庫，未能分類出該研究對象是否為新病人、再復發病人（再治病人），因此可將導致不易釐清其不良用藥組合的原因。
- 二、資料庫之就醫日期分布太廣，其用藥歷程可能產生切頭切尾的情形，導致用藥組合不完整、進而被歸類為不良之藥物處方。

- 三、Error packages 可能包含了二線藥，因計畫時程的關係，尚未將二線藥另行挑出，故其不良率應會下降。
- 四、資料本身仍有內容缺失與不完整，會影響程式設計以及結果評估。
- 五、研究時間限制，對於部分細部調教有待更多討論與回饋，這部分目前仍無法進行。

伍、結論與建議

一、結論

基本上，病人之藥物治療應符合結核病藥物指引之規則，目前結果看來不符合標準規則比例仍然偏高。本計畫之目的期望未來在本程式系統穩定後，能讓第一線醫護人員醫師瞭解不良醫療處方的用藥歷程，包含用藥組合與開藥天數，並透過病歷審查會議，共同討論開立不良藥物處方的原因，以提昇醫療品質、病人用藥安全與結核病完治率。

結核病的治療需要幾種以上之抗結核藥物同時進行，如新病人治療期程主要為先 INH+RMP+PZA+EMB 2 個月，再 INH+RMP+EMB 4 個月。在初期，藥物交互作用或是病人產生藥物不良反應（副作用）是仍是無可避免的。因此臨床醫師往往會因這些情況的發生進而可能開立非標準處方之規則，亦即類似調整藥物之行為，這些結果可能很難完全認為是錯誤，而是有其臨床上專業考量，實際上有一些是可以被認同的可以在未來納入考量。本計畫向專家詢問之可接受之用藥組合（見附錄三、附錄四），這些可被接受的組合應也該寫入程式中，特別說明有哪些組合是可接受的。因此，若有一套完整的不良醫療藥物處方系統，將有助於提供臨床醫師在開立處方時參考。

二、建議（包含專家建議）

針對不良藥物處方之個案，以中部地區為例，專家建議應可於每個月開中部醫療院所之病歷審查會議進行討論，邀請臨床醫護人員與個案管理師等，共同瞭解導致開立不良藥物處方的原因為何，例如是病人的身體狀況的影響、治療天數過短、藥物顆數、頻次、劑量不足或過多等，進行溝通與協調，有效降低不良醫療處方率。除此之外，亦有專家提出建議將藥敏資料也寫入系統程式，因藥敏資訊會影響病人的用藥歷程。

對於資料庫之資訊，應加以利用。本計畫因時程的關係，在取得中央傳染病追蹤管理系統資料之時間較原先預估的時間晚，導致資料庫分析與程式設計方面之時間略為不足，部分目標尚無完全達成，故建議後續研究者可針對本研究結果再延伸發展，不斷地修正並改進，以降低不良醫療處方之產生。

陸、計畫重要研究成果及對國家政策應用之具體建議

一、本計畫之新發現或新發明

進行用藥組合是否符合標準處方之結果發現，中央傳染病追蹤管理系統資料庫大約有 3 成左右不符合標準處方，2008 年健保資料庫大約有 2 成左右不符合標準處方，推測可能原因為臨床上實際遇到的情形較為複雜，需考量病人身體因素，臨床醫師會依病人身體狀況，進行開藥之調整，然本資料庫無更詳細資料進行判斷，另外，提供樣本資料庫本身仍然限制，因此引用本研究相關數據時請謹慎考量。

二、本計畫對民眾具教育宣導之成果

本計畫之目標較與民眾具教育宣導層面無關，議題偏向公共衛生之醫藥衛生方面，期望相關結果能回饋第一線醫護人員，強化照護品質。

三、本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

針對不良藥物處方之個案，以中部地區為例，專家建議應可於每個月開中部醫療院所之病歷審查會議進行討論，邀請臨床醫護人員與個案管理師等，共同瞭解導致開立不良藥物處方的原因為何，例如是病人的身體狀況的影響、治療天數過短、藥物顆數、頻次、劑量不足或過多等，進行溝通與協調，有效降低不良醫療處方率。除此之外，亦有專家提出建議將藥敏資料也寫入系統程式，因藥敏資訊會影響病人的用藥歷程。

「非標準處方，但仍可接受」之用藥組合部分，建議後續研究者未來應請專家評估後，亦寫入程式，進行測試。

對於資料庫之資訊，應加以利用。本計畫因時程的關係，在取得中央傳染病追蹤管理系統資料之時間較原先預估的時間晚，導致資料庫分析與程式設計方面之時間略為不足，部分目標尚無完全達成，故建議後續研究者可針對本研究結果再延伸發展，不斷地修正並改進，以降低不良醫療處方之產生。

柒、參考文獻

1. 江振源, DOTS: 結核防治之最佳策略. *胸腔醫學*, 2000. 15(4): p. 172-177.
2. 謝家如、林麗嬋, 結核病與個案管理模式. *護理雜誌*, 2003. 50(2): p. 77-81.
3. 莊志杰、許玫玲, 臺灣結核病防治政策與相關議題: 組織發展與通報政策變革. *台灣公共衛生雜誌*, 2004. 23(4): p. 292-296.
4. Shrestha-Kuwahara, R., et al., Factors associated with identifying tuberculosis contacts. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2003. 7(12 Suppl 3): p. S510-6.
5. 索任、李龍騰, 台灣地區結核病患者服用遵從性之分析. 1992, 行政院衛生署.
6. Chiang, C.Y., et al., Tuberculosis outcomes in Taipei: factors associated with treatment interruption for 2 months and death. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2009. 13(1): p. 105-11.
7. 行政院衛生署, 結核病十年減半全民動員計畫, 行政院衛生署, Editor. 1996, 行政院衛生署.
8. 陳文蔚、林道平, 台灣地區結核病之流行趨勢及治療方針. *臨床醫學*, 1991. 28: p. 122-129.
9. Bass, J.B., Jr., et al., Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. American Thoracic Society and The Centers for Disease Control and Prevention. *Am J Respir Crit Care Med*, 1994. 149(5): p. 1359-74.
10. Daryl, M. and H. Ralph, Improving patient compliance. *Medical Clinics of North American*, 1977. 61(4): p. 879-889.
11. 蔡旭明、黃洽鑽, 肺結核. *基層醫學*, 2006. 21(5): p. 100-107.
12. WHO, Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing. 2009, Geneva: World Health Organization: WHO report 2009.
13. 行政院衛生署疾病管制局, 結核病診治指引-第三版. 2008: 行政院衛生署疾病管制局.
14. 索任、吳英和, 肺結核病人服藥的順從性. *慢性病防治通訊*, 1993. 19: p. 9-10.
15. 李茹萍、邱艷芬, 肺結核病人之服藥遵從性. *護理雜誌*, 1998. 45(1): p. 63-68.
16. Mitchison, D.A., How drug resistance emerges as a result of poor compliance during short course chemotherapy for tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 1998. 2(1): p. 10-5.
17. 王培東, 台北市結核病流行趨勢與防治成效之研究. *內科學誌*, 2005. 16(1): p. 26-32.
18. Dye, C., et al., Evolution of tuberculosis control and prospects for reducing tuberculosis incidence, prevalence, and deaths globally. *JAMA*, 2005. 293(22): p. 2767-75.

19. 許建邦, et al., 台灣都治 (DOTS) 執行經驗及成效初探. *疫情報導*, 2008. 24(3): p. 184-203.
20. 葉晶晶, et al., 某區域醫院提升住院病患藥物不良反應通報之改善作法. *藥學雜誌*, 2009. 25(4): p. 30-35.
21. 姚淑惠, et al., 某醫藥大學附設醫院藥物不良反應通報系統執行概況. *台灣臨床藥學會雜誌*, 2006. 14(1): p. 29-42.
22. 許翰琳, et al., 多重抗藥性結核病. *內科學誌*, 2009. 20(6): p. 524-531.
23. 行政院衛生署疾病管制局, 結核病診治指引-第四版指引. 2011: 行政院衛生署疾病管制局.
24. 郭旭崧, et al., 台灣結核病防治年報 2009. 2009: 行政院衛生署疾病管制局
25. 張峰義, et al., 台灣結核病防治年報 2010. 2010: 行政院衛生署疾病管制局

捌、圖表

表 3-1-1 開藥天數敘述統計

開藥天數	次數	百分比(%)
28天以下	21189	70.0
29天以上	905	30.0
29 天	59	0.2
30 天	781	2.6
31 天	7	0.0
32 天	2	0.0
33 天	2	0.0
35 天	11	0.0
36 天	1	0.0
39 天	1	0.0
41 天	1	0.0
42 天	1	0.0
43 天	2	0.0
49 天	1	0.0
50 天	1	0.0
56 天	5	0.0
60 天	28	0.1
90 天	2	0.0
遺漏值	8197	27.0
合計	30291	100.0

表 3-1-2 第一線用藥次數分配表

藥名	是否開藥	次數
INH	否	24524
	是	5767
RMP	否	24985
	是	5306
PZA	否	23437
	是	6854
EMB	否	7663
	是	22628
SM	否	29387
	是	904
RFT	否	23600
	是	6691
RFN	否	16158
	是	14133

表 3-1-3 醫療利用情形—是否住院

住院情形	次數	百分比(%)
門診(追蹤中)	22143	73.1
住院(負壓隔離)	3184	10.5
住院(RCW)	528	1.7
住院(其他病床)	3338	11.0
遺漏值	1098	3.6
合計	30291	100.0

表 3-1-4 體重方面之敘述統計

個數	最小值	最大值	平均數	中位數
26851	3	110	55.1	54.0

表 3-1-5 體重方面之次數分配表

體重	次數	百分比(%)
50公斤以下	8578	28.3
50公斤以上	18273	60.3
遺漏值	3440	11.4
合計	30291	100.0

遺漏值：包括(無體重資料、體重為 0kg、體重為 610kg)

表 3-1-6 第一線用藥-INH 顆數與劑量交叉表

INH	劑量							合計
	10	100	150	2	300	400	500	
顆數								
0.5	-	31	-	-	-	-	-	31
0.6	-	13	-	-	-	-	-	13
0.7	-	11	-	-	-	-	-	11
1	-	353	-	-	1	-	6	360
1.5	-	15	-	-	-	-	-	15
2	-	510	1	-	-	6	-	517
2.5	-	197	-	-	-	-	-	197
2.8	-	2	-	-	-	-	-	2
3	2	4198	-	-	-	-	-	4200
4	-	1	-	-	-	-	-	1
5	-	19	-	-	-	-	-	19
6	-	5	-	-	-	-	-	5
100	-	-	-	1	-	-	-	1
合計	2	5355	1	1	1	6	6	5372

表 3-1-7 第一線用藥- RMP 顆數與劑量交叉表

RMP	劑量							合計
	4	150	300	400	450	500	600	
顆數								
0.2	-	-	9	-	-	-	-	9
0.3	-	-	3	-	-	-	-	3
0.5	-	33	1	-	-	-	-	34
0.7	-	4	2	-	-	-	-	6
1	-	145	174	-	736	1	22	1078
1.5	-	1	306	-	-	-	-	307
2	-	145	1733	4	2	-	1	1885
2.5	-	9	-	-	-	-	-	9
3	-	1165	1	-	-	9	-	1175
4	-	342	-	-	-	-	-	342
150	1	-	-	-	-	-	-	1
合計	1	1844	2229	4	738	10	23	4849

表 3-1-8 第一線用藥- PZA 顆數與劑量交叉表

PZA	劑量							合計	
	100	150	250	3	300	400	50		500
顆數									
0.2	-	-	-	-	-	-	-	7	7
0.3	-	-	-	-	-	-	-	1	1
0.25	-	-	-	-	-	-	-	1	1
0.5	-	-	-	-	-	-	-	27	27
0.9	-	-	-	-	-	-	-	2	2
1	-	1	-	-	-	-	-	532	533
1.5	-	-	-	-	-	-	-	72	72
2	-	-	-	-	1	-	-	1886	1887
2.5	-	2	1	-	-	-	-	210	213
23	-	-	-	-	-	-	-	1	1
3	1	7	7	-	2	-	3	3666	3686
3.5	-	-	-	-	-	-	-	2	2
4	-	-	1	-	-	1	-	76	78
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
500	-	-	-	3	-	-	-	-	3
合計	1	10	9	3	3	1	3	6483	6513

表 3-1-9 第一線用藥- EMB 顆數與劑量交叉表

EMB	劑量							合計	
	40	100	200	250	300	400	500		
顆數									
0.5	-	-	-	-	-	-	4	-	4
0.75	-	-	-	-	-	-	6	-	6
1	-	-	-	2	-	-	488	-	490
1.5	-	-	-	-	-	-	869	-	869
2	1	1	2	-	-	22	17600	2	17628
2.5	-	-	-	-	-	-	194	-	194
3	-	-	-	-	-	-	2327	2	2329
4	-	-	-	-	-	-	54	-	54
5	-	-	-	-	-	-	2	-	2
25	-	-	-	-	-	-	1	-	1
合計	1	1	2	2	22	21545	4	4	21577

表 3-1-10 第一線用藥- SM 劑量(SM 無顆數)

藥名	劑量	次數
SM	3	1
	75	1
	100	3
	150	2
	300	1
	500	55
	600	50
	650	6
	700	57
	750	385
	800	47
	900	64
	1000	184
合計	-	856

表 3-1-11 第一線用藥- RFT 顆數表(RFT 為固定劑量)

藥名	顆數	次數
RFT	0.2	1
	0.5	1
	1	5
	2	20
	2.5	6
	3	265
	4	1492
	4.5	4
	5	4586
合計	-	6380

表 3-1-12 第一線用藥- RFN 顆數與劑量交叉表

RFN	劑量							合計
	150	200	30	300	400	450	500	
顆數								
0.5	-	-	-	3	-	-	-	3
1	24	-	-	185	-	1	-	210
1.5	-	-	-	284	-	-	-	284
2	68	1	1	11217	2	2	4	11295
2.5	-	-	-	4	-	-	-	4
3	1708	-	-	17	-	-	-	1725
4	26	-	-	2	-	-	-	28
5	-	-	-	4	-	-	-	4
合計	1826	1	1	11716	2	3	4	13553

表 3-1-13 第一線用藥頻次表

藥名	頻次	次數
INH	QD	5220
	BID	8
	TID	196
	QOD	1
RMP	QD	4896
	BID	48
	TID	57
PZA	QD	5492
	BID	102
	TID	395
	QID	1
	QOD	445
	TIW	65
EMB	QD	20091
	BID	176
	TID	14
	QOD	1248
	TIW	86
SM	QD	751
	QOD	44
	TIW	8
RFT	QD	6320
	BID	13
	QID	3
	TIW	1
RFN	QD	13454
	BID	122
	TID	10
	QOD	9

表 3-1-14 用藥、顆數、頻次與劑量紀錄情形

藥名	是否	次數	百分比(%)
INH	是		
	藥+顆數+頻次+劑量	5357	92.43
	否		
	頻次	28	0.48
	顆數+頻次+劑量	1	0.02
	藥	355	6.12
	藥+顆數	1	0.02
	藥+顆數+頻次	39	0.67
	藥+劑量	1	0.02
藥+顆數+劑量	14	0.24	
RMP	是		
	藥+顆數+頻次+劑量	4816	90.17
	否		
	頻次	34	0.64
	顆數+頻次+劑量	1	0.02
	藥+顆數	1	0.02
	藥+顆數+頻次	28	0.52
	藥+劑量	3	0.06
	藥+顆數+劑量	32	0.60
藥+頻次+劑量	122	2.28	
PZA	是		
	藥+顆數+頻次+劑量	6434	93.54
	否		
	頻次	20	0.29
	顆數+頻次	1	0.01
	顆數+頻次+劑量	3	0.04
	藥	299	4.35
	藥+顆數+頻次	40	0.58
	藥+劑量	3	0.04
藥+顆數+劑量	76	1.10	
藥+頻次+劑量	2	0.03	

3-1-14 用藥、顆數、頻次與劑量紀錄情形 (續)

藥名	是否	次數	百分比(%)
EMB	是		
	藥+顆數+頻次+劑量	21461	94.54
	否		
	頻次	60	0.26
	顆數+頻次+劑量	12	0.05
	藥	975	4.30
	藥+顆數	4	0.02
	藥+顆數+頻次	78	0.34
	藥+劑量	2	0.01
	藥+顆數+劑量	104	0.46
	藥+頻次+劑量	4	0.02
SM	是		
	藥+頻次+劑量	784	85.59
	否		
	頻次	12	1.31
	藥	41	4.48
	藥+頻次	7	0.76
	藥+劑量	72	7.86
RFT	是		
	藥+顆數+頻次	5728	84.91
	否		
	顆數	4	0.06
	頻次	47	0.70
	顆數+頻次	4	0.06
	藥	312	4.62
	藥+顆數	87	1.29
	藥+頻次	1	0.01
	藥+劑量	4	0.06
	藥+顆數+劑量	2	0.03
	藥+頻次+劑量	2	0.03
	藥+顆數+頻次+劑量	555	8.23

表 3-1-14 用藥、顆數、頻次與劑量紀錄情形 (續)

藥名	是否	次數	百分比(%)
RFN	是		
	藥+顆數+頻次+劑量	13484	95.11
	否		
	頻次	37	0.26
	顆數+頻次+劑量	7	0.05
	藥	515	3.63
	藥+顆數	4	0.03
	藥+頻次	2	0.01
	藥+顆數+頻次	55	0.39
	藥+劑量	1	0.01
	藥+顆數+劑量	62	0.44
	藥+頻次+劑量	10	0.07

表 3-1-15 INH 最大劑量 300mg

劑量	次數	百分比(%)
30	2	0.04
50	31	0.58
60	13	0.24
70	11	0.21
100	161	3.00
150	14	0.26
200	512	9.56
250	196	3.66
280	2	0.04
300	4375	81.65
400	2	0.04
500	19	0.35
600	8	0.15
800	6	0.11
1500	6	0.11
合計	5358	100.00

表 3-1-16 INH 最大劑量 * 體重分類 交叉表

劑量	體重分類		合計
	50 公斤以下	50 公斤以上	
30	2	0	2
50	15	15	30
60	13	0	13
70	11	0	11
100	57	82	139
150	12	2	14
200	427	58	485
250	177	17	194
280	2	0	2
300	1649	2339	3988
400	2	0	2
500	0	19	19
600	0	4	4
800	6	0	6
1500	0	6	6
合計	2373	2542	4915

表 3-1-17 RMP 最大劑量 600mg

劑量	次數	百分比(%)
60	8	0.17
75	33	0.69
90	3	0.06
105	4	0.08
150	91	1.89
210	2	0.04
225	1	0.02
300	280	5.81
375	9	0.19
450	2248	46.67
500	1	0.02
600	2112	43.84
800	4	0.08
900	5	0.10
1200	1	0.02
1350	1	0.02
1500	9	0.19
1800	5	0.10
合計	4817	100.00

表 3-1-18 RMP 最大劑量 * 體重分類 交叉表

劑量	體重分類		合計
	50 公斤以下	50 公斤以上	
60	8	0	8
75	24	7	31
90	3	0	3
105	1	0	1
150	46	39	85
210	2	0	2
225	1	0	1
300	143	111	254
375	9	0	9
450	1794	265	2059
500	0	1	1
600	192	1802	1994
800	0	4	4
900	2	2	4
1350	1	0	1
1500	0	9	9
1800	0	5	5
合計	2226	2245	4471

表 3-1-19 PZA 最大劑量 2000mg

劑量	次數	百分比(%)
100	1	0.02
150	5	0.08
200	6	0.09
250	25	0.39
300	1	0.02
375	3	0.05
400	29	0.45
450	9	0.14
500	177	2.75
600	37	0.58
625	14	0.22
750	386	6.00
900	1	0.02
1000	1808	28.09
1250	191	2.97
1500	3671	57.03
1600	1	0.02
1750	2	0.03
2000	64	0.99
4500	4	0.06
6000	1	0.02
11500	1	0.02
總和	6437	100.00

表 3-1-20 PZA 最大劑量 * 體重分類 交叉表

劑量	體重分類		合計
	50 公斤以下	50 公斤以上	
100	1	0	1
150	5	0	5
200	6	0	6
250	11	14	25
300	0	1	1
375	3	0	3
400	24	5	29
450	2	7	9
500	122	49	171
600	0	1	1
600	5	26	31
625	2	8	10
750	87	269	356
900	0	1	1
1000	1346	384	1730
1250	76	103	179
1500	365	3123	3488
1600	0	1	1
1750	0	2	2
2000	13	50	63
4500	0	3	3
6000	0	1	1
11500	1	0	1
合計	2069	4048	6117

表 3-1-21 EMB 最大劑量 1600mg

劑量	次數	百分比(%)
80	1	0.00
150	6	0.03
200	32	0.15
240	4	0.02
300	38	0.18
320	58	0.27
400	1178	5.49
480	24	0.11
500	10	0.05
600	1105	5.15
750	2	0.01
800	16738	77.95
1000	186	0.87
1200	2020	9.41
1500	2	0.01
1600	63	0.29
2000	2	0.01
2400	3	0.01
10000	1	0.00
合計	21473	100.00

表 3-1-22 EMB 最大劑量 * 體重分類 交叉表

劑量	體重分類		合計
	50 公斤以下	50 公斤以上	
80	0	1	1
150	6	0	6
200	10	21	31
240	3	1	4
300	28	7	35
320	15	41	56
400	441	648	1089
480	0	22	22
500	1	7	8
600	782	267	1049
750	2	0	2
800	4966	10434	15400
1000	5	174	179
1200	38	1932	1970
1500	0	2	2
1600	8	53	61
2000	0	1	1
2400	2	1	3
10000	0	1	1
合計	6307	13613	19920

表 3-1-23 SM 最大劑量 1000mg

劑量	次數	百分比(%)
3	1	0.13
40	1	0.13
60	2	0.26
75	1	0.13
100	2	0.26
150	1	0.13
250	4	0.51
300	2	0.26
375	16	2.04
400	4	0.51
500	70	8.93
600	50	6.38
650	6	0.77
700	55	7.02
750	325	41.45
800	44	5.61
900	49	6.25
1000	151	19.26
合計	784	100.00

表 3-1-24 SM 最大劑量 * 體重分類 交叉表

劑量	體重分類		合計
	50 公斤以下	50 公斤以上	
3	1	0	1
40	0	1	1
60	0	2	2
75	0	1	1
100	0	2	2
150	1	0	1
250	3	0	3
300	2	0	2
375	3	10	13
400	3	1	4
500	59	8	67
600	48	0	48
650	6	0	6
700	21	24	45
750	114	157	271
800	2	38	40
900	2	37	39
1000	11	116	127
合計	276	397	673

表 3-1-25 RFT 最大劑量 450mg(INH80mg+RMP120mg+RMP250mg)*最多 5 錠
=2250mg

劑量	次數	百分比(%)
40	1	0.18
160	1	0.18
200	1	0.18
320	30	5.41
360	8	1.44
400	140	25.23
450	10	1.80
480	62	11.17
500	1	0.18
600	177	31.89
750	3	0.54
1800	6	1.08
2000	31	5.59
2250	27	4.86
2500	57	10.27
合計	555	100.00

表 3-1-26 RFT 最大劑量 * 體重分類 交叉表

劑量	體重分類		合計
	50 公斤以下	50 公斤以上	
40	1	0	1
160	1	0	1
200	1	0	1
320	22	1	23
360	7	0	7
400	14	120	134
450	9	1	10
480	39	2	41
600	7	133	140
750	3	0	3
1800	6	0	6
2000	31	0	31
2250	6	21	27
2500	7	50	57
合計	154	328	482

表 3-1-27 RFN 最大劑量 RFN150*3 錠=450mg；RFN300*2 錠=600mg

劑量	次數	百分比(%)
60	1	0.01
150	10	0.07
300	158	1.17
400	1	0.01
450	1999	14.82
600	11285	83.65
750	4	0.03
800	2	0.01
900	19	0.14
1000	4	0.03
1200	4	0.03
1500	4	0.03
合計	13491	100.00

表 3-1-28 RFN 最大劑量 * 體重分類 交叉表

劑量	體重分類		合計
	50 公斤以下	50 公斤以上	
60	0	1	1
150	7	1	8
300	71	65	136
400	0	1	1
450	1843	95	1938
600	1269	9296	10565
750	0	4	4
800	0	1	1
900	2	17	19
1000	0	4	4
1200	2	1	3
1500	0	4	4
合計	3194	9490	12684

表 3-1-29 用藥組合分布表

組合	次數	百分比(%)
1種組合	720	25.1
2種組合	1133	39.5
3種組合	524	18.3
4種組合	232	8.1
5種組合	118	4.1
6種組合	75	2.6
7種組合	30	1.0
8種組合	13	0.5
9種組合	14	0.5
10種組合	6	0.2
11種組合	3	0.1
12種組合	2	0.1
13種組合	0	0.0
14種組合	0	0.0
15種組合	0	0.0
16種組合	1	0.0
合計	2871	100.0

表 3-1-30 完整用藥組合分布表

組合	次數	百分比(%)
1 種組合	719	25.0
2 種組合	1122	39.1
3 種組合	890	31.0
4 種組合	32	1.1
5 種組合	23	0.8
6 種組合	16	0.6
7 種組合	22	0.8
8 種組合	17	0.6
9 種組合	13	0.5
10 種組合	4	0.1
11 種組合	7	0.2
12 種組合	2	0.1
13 種組合	1	0.0
14 種組合	0	0.0
15 種組合	1	0.0
16 種組合	2	0.1
17 種組合	1	0.0
合計	2872	100.0

表 3-1-31 歸人後用藥組合分布情形

組合	次數	百分比(%)	是否符合 標準處方
EMB+RFT	1743	19.39	O
EMB+RFN	1542	17.16	O
PZA+EMB+RFN	1073	11.94	O
RFN	620	6.90	O
INH+RMP+EMB	454	5.05	O
INH+RMP+PZA+EMB	340	3.78	O
RFT(=INH+RMP+PZA)	184	2.05	O
PZA+RFN(=INH+RMP+PZA)	174	1.94	O
INH+RMP	172	1.91	O
INH+EMB	133	1.48	X
INH	125	1.39	X
RMP+PZA+EMB	110	1.22	X
EMB+SM+RFT	103	1.15	X
EMB	93	1.03	X
INH+PZA+EMB	92	1.02	X
RMP+EMB	73	0.81	X
INH+RMP+PZA	68	0.76	O
PZA+EMB	53	0.59	X
EMB+SM	43	0.48	X
EMB+RFT+RFN	37	0.41	X
RMP	33	0.37	X
PZA	31	0.34	X
INH+PZA	26	0.29	X
INH+RMP+EMB+SM	23	0.26	X
INH+EMB+SM	22	0.24	X
INH+RMP+EMB+RFN	22	0.24	X
PZA+EMB+SM+RFN	22	0.24	X
SM	20	0.22	X
EMB+SM+RFN	20	0.22	X
INH+RMP+PZA+EMB+SM	18	0.20	O
RMP+PZA	17	0.19	X
INH+PZA+EMB+SM	17	0.19	X

表 3-1-31 歸人後用藥組合分布情形 (續)

組合	次數	百分比(%)	是否符合 標準處方
SM+RFT	13	0.14	X
INH+RMP+SM	11	0.12	X
INH+RMP+RFN	9	0.10	X
RFT+RFN	9	0.10	X
INH+SM	8	0.09	X
INH+RMP+PZA+SM	7	0.08	X
INH+PZA+EMB+RFN	7	0.08	X
RMP+EMB+SM	6	0.07	X
PZA+EMB+SM	6	0.07	X
SM+RFN	6	0.07	X
INH+EMB+RFT	5	0.06	X
INH+RFN	5	0.06	X
INH+RMP+PZA+EMB+RFN	5	0.06	X
INH+EMB+RFN	4	0.04	X
RMP+EMB+RFN	4	0.04	X
PZA+SM	3	0.03	X
INH+PZA+SM	3	0.03	X
RMP+PZA+EMB+SM	3	0.03	X
INH+RMP+EMB+RFT	3	0.03	X
RMP+RFN	3	0.03	X
RMP+PZA+EMB+RFN	3	0.03	X
PZA+SM+RFN	3	0.03	X
PZA+EMB+RFT+RFN	3	0.03	X
EMB+SM+RFT+RFN	3	0.03	X
RMP+SM	2	0.02	X
PZA+EMB+RFT	2	0.02	X
RMP+PZA+SM	1	0.01	X
INH+RFT	1	0.01	X
INH+RMP+RFT	1	0.01	X
RMP+EMB+RFT	1	0.01	X
INH+PZA+EMB+RFT	1	0.01	X
PZA+SM+RFT	1	0.01	X

表 3-1-31 歸人後用藥組合分布情形 (續)

組合	次數	百分比(%)	是否符合 標準處方
INH+PZA+EMB+SM+RFT	1	0.01	X
RMP+RFT+RFN	1	0.01	X
小計	7647	85.09	
系統界定的遺漏	1340	14.91	
合計	8987	100.00	

表 3-2-1 用藥組合分布

Package	筆數	百分比(%)
ErrorPackage	6661	21.99
Package1-1a#Package2-2a#	1165	3.85
Package1-1b#Package2-2b#	5815	19.20
Package1-1c#Package2-2c#	3475	11.47
Package1-1d#	171	0.56
Package1-2a#Package2-3a#	2074	6.85
Package1-2b#Package2-3b#	7084	23.39
Package1-2c#	628	2.07
Package1-2d#	2808	9.27
Package2-1a#	52	0.17
Package2-1b#	315	1.04
Package2-1c#	43	0.14
合計	30291	100.00

表 3-2-2 Max Amount Error (Package,Med)

Package, Med	次數	百分比%
Package1-1d,INH	1	0.9
Package1-2c,RMP	1	0.9
Package2-2a,INH	12	10.8
Package2-2a,RMP	10	9.0
Package2-2a,PZA	1	0.9
Package2-2a,EMB	2	1.8
Package2-2b,EMB	1	0.9
Package2-3a,INH	15	13.5
Package2-3a,RMP	9	8.1
Package2-3b,RFT	57	51.4
Package2-3b,EMB	2	1.8
合計	111	100.0

表 3-2-3 Min Amount by Weight Error

Package, Med	次數	百分比%
Package1-1d,INH	33	0.3
Package1-1d,RMP	64	0.6
Package1-1d,PZA	98	0.9
Package1-2c,INH	136	1.2
Package1-2c,RMP	255	2.3
Package1-2d,RFT	38	0.3
Package2-1a,INH	6	0.1
Package2-1a,RMP	18	0.2
Package2-1a,PZA	29	0.3
Package2-1a,EMB	10	0.1
Package2-1b,EMB	21	0.2
Package2-2a,INH	315	2.8
Package2-2a,RMP	409	3.6
Package2-2a,PZA	568	5.0
Package2-2a,EMB	517	4.6
Package2-2b,EMB	3572	31.7
Package2-2c,PZA	5	0.0
Package2-2c,EMB	1	0.0
Package2-3a,INH	492	4.4
Package2-3a,RMP	772	6.9
Package2-3a,EMB	842	7.5
Package2-3b,RFT	365	3.2
Package2-3b,EMB	2685	23.9
合計	11251	100

表 3-2-4 V1 顆數 Max File Error

Med	次數	百分比(%)
INH	1	2.6
RMP	1	2.6
PZA	4	10.3
EMB	1	2.6
RFN	32	82.1
合計	39	100.0

表 3-2-5 V1 顆數 V2 頻次 V3 劑量 Empty Error

Med	次數	百分比(%)
INH	264	1.8
RMP	318	2.2
PZA	107	0.7
EMB	931	6.4
RFT	5716	39.5
RFN	7134	49.3
合計	14470	100.0

表 3-2-6 V3 劑量 Min File Error

Med	次數	百分比(%)
INH	3	1.6
RMP	1	.5
PZA	8	4.3
EMB	2	1.1
SM	8	4.3
RFN	155	84.2
RFT	7	3.8
合計	184	100.0

表 3-3-1 2008 年結核病新病人之人口特性

變項	次數	百分比(%)	
性別	男性	7436	66.6
	女性	3577	32.0
	不詳	151	1.4
年齡	20 歲~29 歲	845	7.6
	30 歲~39 歲	950	8.5
	40 歲~49 歲	1433	12.8
	50 歲~59 歲	1838	16.5
	60 歲~69 歲	1817	16.3
	70 歲以上	4281	38.3
投保金額分級	≤15,840 元	2828	25.3
	16,500~28,800 元	4370	39.1
	30,300 元~45,800 元	794	7.1
	48,200 元~60,800 元	183	1.6
	≥60801 元	162	1.5
	小計	8337	74.7
	遺漏值	2827	25.3
投保地區	台北區	3183	28.5
	北區	1260	11.3
	中區	2331	20.9
	南區	1730	15.5
	高屏區	2100	18.8
	東區	560	5.0
都市化程度	高	6829	61.2
	低	4335	38.8

表 3-3-2 一年內結核病新病人醫療利用之敘述統計

	個數	最小值	最大值	平均數	標準差
一年內 TB 有關治療次數	11164	2	66	11.47	6.9
一年內 TB 有關治療費用	11164	163.4	33326.2	1740.4	1449.6

表 3-3-3 2008 年新結核病病人前二個月用藥組合

組合	次數	百分比(%)	是否符合 標準處方
EMB+RFT	12648	44.71	O
EMB+RFN	3250	11.49	O
PZA+EMB+RFN	1720	6.08	O
RFT	1662	5.87	O
EMB	1363	4.82	X
RFN	1156	4.09	O
INH+RMP+EMB	1075	3.80	O
INH+EMB	935	3.30	X
INH+RMP+PZA+EMB	723	2.56	O
RMP+PZA+EMB	578	2.04	X
INH+PZA+EMB	562	1.99	X
INH	474	1.68	X
PZA+EMB	421	1.49	X
RMP+EMB	268	0.95	X
EMB+RFT+RFN	174	0.62	X
INH+RMP	155	0.55	O
PZA+RFN	133	0.47	O
EMB+SM+RFT	96	0.34	X
INH+RMP+PZA	90	0.32	O
PZA	85	0.30	X
EMB+SM	73	0.26	X
INH+PZA	70	0.25	X
RMP	49	0.17	X
INH+EMB+SM	41	0.14	X
SM	31	0.11	X
INH+EMB+RFT	27	0.10	X
EMB+SM+RFN	23	0.08	X
SM+RFT	22	0.08	X
PZA+EMB+RFT	18	0.06	X
RMP+PZA	16	0.06	X
INH+RMP+EMB+RFT	14	0.05	X

表 3-3-3 2008 年新結核病病人前二個月用藥組合(續)

組合	次數	百分比(%)	是否符合 標準處方
RFT+RFN	14	0.05	X
INH+RMP+PZA+EMB+SM	9	0.03	O
RMP+EMB+SM	8	0.03	X
RMP+PZA+EMB+SM	7	0.02	X
INH+RFT	6	0.02	X
INH+RMP+EMB+SM	6	0.02	X
INH+SM	6	0.02	X
其他組合	44	0.16	X
二_KM+其他一線藥	28	0.10	X
二_LFX	19	0.07	X
二_LFX+其他一線藥	7	0.02	X
二_MFX	31	0.11	X
二_MFX+其他一線藥	59	0.21	X
二_OFLX	30	0.11	X
二_RFB+其他一線藥	65	0.23	X
總和	28291	100.00	

註:「二」為第二線抗結核藥物之簡寫

表 3-3-4 2008 年新結核病病人後四個月用藥組合

組合	次數	百分比(%)	是否符合 標準處方
INH	8435	12.74	X
EMB	27593	41.68	X
INH+EMB	83	0.13	X
PZA	2041	3.08	X
RFN	18134	27.39	O
RFT	3478	5.25	X
RMP	5661	8.55	X
SM	419	0.63	X
二_LFX	18	0.03	X

二_MFX	102	0.15	X
二_OFLX	83	0.13	X
二_RFB	157	0.24	X
總和	66204	100.00	

註:「二」為第二線抗結核藥物之簡寫

玖、附錄

附錄一、中央傳染病追蹤管理系統研究變項

資料表	欄位說明	代碼說明
RecNo	自動編碼	
p_ID	身分證號	
p_indate	住院起日	
data_date	就醫(資料)日期	
ms_1	領藥日數(TB用藥)	
ms_2	INH	Y.是 N.否
ms_3	RMP	Y.是 N.否
ms_4	PZA	Y.是 N.否
ms_5	EMB	Y.是 N.否
ms_9	SM	Y.是 N.否
ms_14	RFT	Y.是 N.否
ms_15	RFN	Y.是 N.否
ms_28	是否住院中	R.住院(RCW) P.住院(負壓隔離) Y.住院(其他病床) N.門診(追蹤中)
ms_29	目前體重	
v1_2	顆數 INH	
v1_3	顆數 RMP	
v1_4	顆數 PZA	
v1_9	顆數 SM	
v1_14	顆數 RFT	
v1_15	顆數 RFN	
v2_2	頻次 INH	1.QD 2.BID 3.TID 4.QID 5.QOD 6.TIW

資料表	欄位說明	代碼說明
v2_3	頻次 RMP	1.QD 2.BID 3.TID 4.QID 5.QOD 6.TIW
v2_4	頻次 PZA	1.QD 2.BID 3.TID 4.QID 5.QOD 6.TIW
v2_5	頻次 EMB	1.QD 2.BID 3.TID 4.QID 5.QOD 6.TIW
v2_9	頻次 SM	1.QD 2.BID 3.TID 4.QID 5.QOD 6.TIW
v2_14	頻次 RFT	1.QD 2.BID 3.TID 4.QID 5.QOD 6.TIW
v2_15	頻次 RFN	1.QD 2.BID 3.TID 4.QID 5.QOD 6.TIW
v3_2	劑量 INH	
v3_3	劑量 RMP	
v3_4	劑量 PZA	
v3_5	劑量 EMB	
v3_9	劑量 SM	
v3_14	劑量 RFT	
v3_15	劑量 RFN	

附錄二、2008 年健保資料庫研究變項

1.全民健保承保檔

序號	Field Name	欄位說明	緣由或目的
1	ID1_DIVISION	組別	確認個案所屬分局別
2	ID1_UNIT	單位屬性	確認個案投保單位屬性
3	ID1_CITY	地區代號	確認個案所屬地區及其都市化程度
4	ID	個人 ID	串檔用
5	ID_S	個人 ID 性別	辨識個案性別
6	ID1	被保險人 ID	辨識個案是否為眷屬用
7	ID_BIRTH_YM	出生日期	計算個案年齡用
8	ID1_TYPE	身份別	確認被保險人身份用
9	ID_RELATION	眷屬稱謂	辨識眷屬身份
10	ID1_AMT	投保金額	確認個案收入情形用
11	ID_DIFF	異動別	確認個案投保異動情形
12	ID1_IDENT	身分屬性	確認被保險人身份屬性

2.全民健保處方及治療醫令明細檔_門急診

序號	Field Name	欄位說明	緣由或目的
1	FEE_YM	費用年月	串檔用
2	APPL_TYPE	申報類別	串檔用
3	APPL_DATE	申報日期	串檔用
4	CASE_TYPE	案件分類	串檔用
5	SEQ_NO	流水號	串檔用
6	ORDER_TYPE	醫令類別	確認醫令類別
7	DRUG_NO	藥品(項目)代號	確認用藥種類
8	DRUG_USE	藥品用量(診療部位)	確認藥品用量
9	DRUG_FRE	藥品使用頻率(支付成數)	確認用藥頻率
10	UNIT_P	單價	確認藥品單價
11	TOTAL_Q	總量	確認藥品總量
12	TOTAL_DOT	點數	確認用藥費用
13	HOSP_ID	醫療機構代號	串檔用
14	CITY	醫療機構縣市鄉鎮市區代碼	
15	HOS	醫療機構權屬別	
16	ORDER_SEQ_NO	醫令序號	確認醫令數量

3.全民健保處方及治療明細檔_門急診

序號	Field Name	欄位說明	緣由或目的
1	FEE_YM	費用年月	串檔用
2	APPL_TYPE	申報類別	串檔用
3	APPL_DATE	申報日期	串檔用
4	CASE_TYPE	案件分類	串檔用
5	SEQ_NO	流水號	串檔用
6	CURE_ITEM_NO1	特定治療項目代號一	辨識該治療為結核病相關處置
7	CURE_ITEM_NO2	特定治療項目代號二	
8	CURE_ITEM_NO3	特定治療項目代號三	
9	CURE_ITEM_NO4	特定治療項目代號四	
10	FUNC_TYPE	就醫科別	分析科別對異常處方之影響
11	FUNC_DATE	就醫日期	計算就醫療程用
12	TREAT_END_DATE	治療結束日期	計算就醫療程用
13	ICD9CM_1	國際疾病分類號一	辨識個案用
14	ICD9CM_2	國際疾病分類號二	辨識個案用
15	ICD9CM_3	國際疾病分類號三	辨識個案用
16	DRUG_DAY	給藥日份	計算給藥日數用
17	MED_TYPE	處方調劑方式	辨識給藥方法
18	DRUG_DOT	用藥明細點數小計	計算藥品費用
19	T_DOT	合計點數	計算醫療費用
20	ID	身分證字號	串檔用
21	HOSP_ID	醫療機構代號	串檔用

附錄三、非標準處方，但可接受之調查

煩請勾選「非標準處方，但可接受」欄位。

編號	組合	是否符合 標準處方	非標準處方，但 可接受
1	EMB+RFT	O	
2	EMB+RFN	O	
3	PZA+EMB+RFN	O	
4	RFN	O	
5	INH+RMP+EMB	O	
6	INH+RMP+PZA+EMB	O	
7	RFT(=INH+RMP+PZA)	O	
8	PZA+RFN(=INH+RMP+PZA)	O	
9	INH+RMP	O	
10	INH+RMP+PZA	O	
11	INH+RMP+PZA+EMB+SM	O	
12	INH+EMB	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
13	INH	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
14	RMP+PZA+EMB	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
15	EMB+SM+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
16	EMB	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
17	INH+PZA+EMB	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
18	RMP+EMB	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
19	PZA+EMB	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
20	EMB+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
21	EMB+RFT+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
22	RMP	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
23	PZA	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
24	INH+PZA	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
25	INH+RMP+EMB+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
26	INH+EMB+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
27	INH+RMP+EMB+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
28	PZA+EMB+SM+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
29	SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
30	EMB+SM+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>

編號	組合	是否符合 標準處方	非標準處方，但 可接受
31	RMP+PZA	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
32	INH+PZA+EMB+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
33	SM+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
34	INH+RMP+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
35	INH+RMP+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
36	RFT+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
37	INH+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
38	INH+RMP+PZA+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
39	INH+PZA+EMB+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
40	RMP+EMB+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
41	PZA+EMB+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
42	SM+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
43	INH+EMB+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
44	INH+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
42	INH+RMP+PZA+EMB+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
46	INH+EMB+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
47	RMP+EMB+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
48	PZA+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
49	INH+PZA+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
50	RMP+PZA+EMB+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
51	INH+RMP+EMB+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
52	RMP+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
53	RMP+PZA+EMB+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
54	PZA+SM+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
55	PZA+EMB+RFT+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
56	EMB+SM+RFT+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
57	RMP+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
58	PZA+EMB+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
59	RMP+PZA+SM	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
60	INH+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
61	INH+RMP+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
62	RMP+EMB+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
63	INH+PZA+EMB+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
64	PZA+SM+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
65	INH+PZA+EMB+SM+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>

編號	組合	是否符合 標準處方	非標準處方，但 可接受
66	RMP+RFT+RFN	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>
67	RMP+PZA+RFT	X	是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>

附錄四、非標準處方，但可接受之組合結果

編號	非標準處方，但可接受之組合
14	RMP+PZA+EMB
15	EMB+SM+RFT
17	INH+PZA+EMB
25	INH+RMP+EMB+SM
28	PZA+EMB+SM+RFN
30	EMB+SM+RFN
32	INH+PZA+EMB+SM
33	SM+RFT
34	INH+RMP+SM
38	INH+RMP+PZA+SM
43	INH+EMB+RFT
50	RMP+PZA+EMB+SM

附錄五、會議紀錄

一、第一次會議紀錄

時間：4月18日14時00分

地點：行政院衛生署台中醫院

主席：邱尚志 助理教授

紀錄：王秀英

出席：黃丞正醫師

列席：王秀英

一、報告事項：

- (一) 說明研究計畫的目的、設計流程、進度與面臨到的問題。
- (二) 確認病人類別判斷、用藥歷程的定義。

二、討論事項：

- (一) 討論新病人與用藥歷程的定義

其主要的資料來源有二，為結核病資料庫和中央傳染病追蹤管理系統。處方指引方面，除了標準處方外，複方要特別注意，而是否有基因檢測其用藥指引也會不同。而標準處方主要分為兩個月和四個月；二個月（60天）開四種藥，後面四個月（120天）開三種藥，但還有例外的情形發生。如果提早結束吃藥，就是不良處方。此外，黃醫師建議開藥時間之界定應依疾管局規定，以天數為主。

三、臨時動議：無。

四、決議事項：

目前先完成「用藥歷程」的部分，待資工寫好程式，跑過一次後，會再請專家協助審查，確保資料與程式的正確性與合理性。

散會（16時00分）

二、第二次會議紀錄

時間：4月25日10時00分

地點：疾病管制局第三分局

主席：邱尚志 助理教授

紀錄：王秀英

出席：魏嵩璽醫師

列席：王秀英

一、報告事項：

- (一) 說明目前研究計畫的進度與面臨到的問題。
- (二) 討論經費核銷相關議題。

二、討論事項：

邱老師提到目前研究的困境主要為缺乏資料欄位與資料細節等。初期尚無法做出即時性的系統。魏醫師提到，他可提供資料處理權限來看資料（分批）與提供空間進行資料處理以利進行研究，並且建議將處方規則與沈醫師進行確認；而資料的醫院欄位部分必須再與楊科長進行確認。除此之外，邱老師提到資工若程式寫好後，會將模擬資料請他們跑一次。最後則討論經費核銷的處理方式。

三、臨時動議：無。

四、決議事項：

魏醫師將全力配合有關資料庫的部分，並且提供研究空間來進行資料分析與處理。

散會（12時00分）

三、第三次會議紀錄

時間：4月25日13時30分

地點：台中榮民總醫院

主席：邱尚志 助理教授

紀錄：王秀英

出席：沈光漢醫師

列席：王秀英

一、報告事項：

(一) 說明目前研究計畫的進度、執行的狀況與面臨到的問題。

(二) 討論經費核銷議題。

二、討論事項：

(一) 邱老師說明關於目前遇到的問題與執行進度。所遇到的問題即為資料尚未明朗化，細節仍未清楚。

(二) 沈醫師提到基本上臨床沒有基因檢測，資料可能也沒有基因檢測，因此實際上可能無法去分析。

(三) 討論處方指引檢核，而複方部分將請沈醫師確認。

(四) 研究對象分為新案（新病人）和重開案（再發病），而重開案的流程需要再重新修改一次；用藥處方（共有八種，多一種處方為：處方1 + SM 2個月）；藥敏（分為有無更改處方）；最後呈現結果為標準處方或異常處方（種類或劑量不正確）。

(五) 就中區醫院部分，調病歷的部分可以先以中榮病歷為主。

三、臨時動議：無。

四、決議事項：

將製作處方指引檢核表，請專家們審核；目前先做離線系統，即時性系統難度尚無法完成。

散會（15時30分）

四、第四次會議紀錄

時間：5月9日14時30分

地點：台中榮民總醫院

主席：邱尚志 助理教授

紀錄：施惠中

出席：沈光漢醫師

列席：施惠中

一、報告事項：

(一) 確認資料處理的規則 (標準處方、時間、劑量)。

二、討論事項：

(一) 與沈醫師進行規則確認，大分類下，分為第一線用藥與第二線用藥 (凡遇 FQ、TBN、KM、CS、PAS (5種) 皆屬於第二線用藥)。

(二) 沈醫師說明門診一般開藥為 28 天，因此以天數為單位較適當 (以 28 天或 7 天為單位)，方式建議以範圍呈現較佳 (56 天~84 天)。標準處方方面，分為 2 個 package，其他處方則經專家會議認定後修正規則。

(三) 劑量方面，分為規則 1 和規則 2。

(四) 沈醫師建議可以先 run 魏醫師的資料。

三、臨時動議：無。

四、決議事項：

資料已申請並等待中，取得資料後會馬上進行處理。

散會 (15 時 30 分)

五、第五次會議紀錄

時間：5月31日14時30分

地點：署立彰化醫院

主席：邱尚志 助理教授

紀錄：施惠中

出席：黃伊文主任

列席：施惠中

一、報告事項：

(一) 說明目前計畫執行情形與執行的困難處。

(二) 從資料庫看出，中區去年沒有使用標準指引的用藥處方比例有點高。

二、討論事項：

(一) 釐清一線藥和二線藥的分別，凡非 INH、RMP、PZA、EMB 皆屬於第二線用藥。

(二) 邱老師詢問黃主任，醫師是否不會將劑量和用法 key 入系統中？黃主任指出基本上電腦會自動帶入資料，(1) 因體重不同的關係，若醫師未改，就會導致系統上沒有資料；(2) 醫院系統設置問題。

(三) 確定時間規則：1 個月 (28~30 天)、2 個月 (56~60 天)、4 個月 (112~120 天)、5 個月 (140~150 天)。

(四) INH+RMP+EMB 4 個月，若僅未開 EMB 需先註記 (因臨床上是同標準處方)。

(五) 討論劑量用法的規則。

三、臨時動議：無。

四、決議事項：

目前先整理用藥模式，七月將開專家會議，詢問專家意見。並撰寫兩種程式 (VB 和 SAS)，能篩選不良處方的比例及原因。

散會 (15 時 30 分)

六、第六次會議紀錄

時間：8月11日10時00分

地點：行政院衛生署台中醫院健康促進大樓5F討論室2

主席：邱尚志 助理教授

紀錄：施惠中

出席：索任醫師、沈光漢醫師、楊文達主任、黃伊文主任、黃丞正醫師、黃偉彰醫師

列席：王秀英、施惠中

請假：劉宇倫醫師、魏嵩璽醫師

一、報告事項：

- (一) 報告本研究目前的進度與初步結果及討論目前遇到的問題。
- (二) 確認用藥分類、標準處方 (package1, package2) 與劑量的規則。
- (三) 說明中央傳染病追蹤系統資料庫 TB 用藥情形之描述性統計。
- (四) 說明 TB 用藥組合之分布情形。
- (五) 說明程式設計的部分 (VB & SAS)。

二、討論事項：

- (一) 目前用藥分類、標準處方與劑量的規則是否適當？
 - (二) 用藥分類方面，SM 用的並不多。
 - (三) package1 為 new case，package2 為再復發病人。
 - (四) 楊主任指出，假設藥敏有效就會用 PZA。
 - (五) 確認顆數*頻次*劑量=Max 規則。以 Max 最重要，但必須要考慮體重。
 - (六) 以兩個月四種藥或三種藥（沒有 PZA）為首要，如果沒有這四種藥或三種藥即歸為不是標準處方。
 - (七) 資料庫出現未來時間、體重、用藥顆數等有異之處理方式。
 - (八) 楊主任建議，出現未來時間的觀察值應予以刪除，並且應提供資料庫的抽樣方法，使定義更為明確。
 - (九) 索醫師及楊主任建議體重不明之觀察值先予以剔除，並且考慮用年齡去分類，兒童的部分考慮不列入此次之研究對象。
- 凡屬資料 key in 有異之觀察值，皆先刪除。
- (十) 黃主任建議在用藥頻次部分，如有 HIV 與腎臟疾病等應剔除，避免影響整個資料分布。
 - (十一) 在劑量方面，黃主任指出劑量的定義可能有些問題。
 - (十二) 討論用藥組合符合標準處方和不符合標準處方之分布情形。
 - (十三) 有些組合雖不符合標準處方但還是在可接受的範圍內，因此需再確認哪些組合是屬於可接受的處方。
 - (十四) 討論是否申請結核病資料庫，俾利研究。
 - (十五) 討論開藥天數的界定方式。

(十六) 討論歸人後用藥組合之結果。該資料庫最多有 16 種組合，其中以 2 種組合所占比例最高。

(十七) 目前程式已寫好，但有些部分需再釐清。

三、臨時動議：

(一) 楊主任、索醫師及沈醫師認為可考慮將第二線用藥納入本次研究之用藥組合，如此其用藥組合的分布情形將會更完整與確實。

(二) 楊主任與沈醫師建議資料的對象應以病人開始治療日(收案日)做切點。

四、決議事項：

用藥組合會加入第二線用藥，使其用藥組合更加完整。而在程式方面則是以原先概念為主。

已向衛生署統計室加值中心申請健保資料庫，並將向疾管局申請結核病資料庫以進行研究，增加本計畫之廣泛性與豐富性。

將會把資料再重新檢視，確認其正確性。

散會(12 時 30 分)

七、第七次會議紀錄

時間：9 月 16 日 17 時 00 分

地點：台中榮民總醫院

主席：邱尚志 助理教授

紀錄：施惠中

出席：沈光漢醫師

列席：施惠中

一、報告事項：

(一) 說明本研究目前的進度與及確認用藥劑量(MAX)。

二、討論事項：

(一) 確認第一線用藥之 Max。

(二) 一般用藥劑量希望為 over，under 不行，但不能超過其最大劑量(MAX)。

(三) 依據研究對象之體重(KG)計算應開立之藥物劑量(KG* Tab)。

三、臨時動議：無。

四、決議事項：

確認用藥劑量後，將規則寫入程式。

散會(18 時 00 分)

八、第八次會議紀錄

時間：10 月 7 日 15 時 00 分

地點：台中榮民總醫院

主席：邱尚志 助理教授

紀錄：施惠中

出席：沈光漢醫師、楊文達主任、黃偉彰醫師、魏嵩璽醫師

列席：施惠中

請假：王秀英（出差）、黃伊文主任、黃丞正醫師、劉宇倫醫師

一、報告事項：

（一）說明目前執行計畫之初步研究結果，包含第一線用藥最大劑量與體重分類、標準處方分布、程式方面與健保資料庫分析之結果。

（二）說明中央傳染病追蹤系統資料庫除錯部分如體重資料、用藥顆數、packages。

（三）說明中央傳染病追蹤系統資料庫劑量與體重方面之計算方式。

詢問醫師對不良處方之結果有何想法與建議。

二、討論事項：

（一）討論用藥歷程，前兩個月病人有吃藥，但並不表示該病人為罹患結核病病人。

（二）楊主任提出，上次會議後提供的 TB 就醫紀錄之用藥歷程與天數，有些用藥資訊不明確。邱老師回覆，因原先現有的資料庫為測試程式之資料，故就醫紀錄會不完整，已向楊科長申請 2008 年完整就醫紀錄之資料，分別進行橫斷面研究與 cohort study。

（三）住院資訊是否要另外篩出？楊主任建議假若住院資料完整性高，那麼應可篩出。但目前就醫資訊完整性仍不高，故在系統測試方面，住院資訊仍先保留。

（四）治療天數應為滿一百八十天，但在三百六十五天以內。

（五）楊主任與魏醫師建議：超過劑量（MAX）方面，特別挑出來看原因、必須提病歷審查會議，因超過劑量將產生副作用的機會大。低於劑量方面，亦要開病歷審查會議，若有即時提醒劑量有誤之系統更佳。

（六）標準處方錯誤可能有順序不正確與處方量不足。可能的原因為調整用藥或是換醫療院所，楊主任與魏醫師建議若連續一、兩週皆發現有問題，則須要提病歷審查，瞭解可能發生的因素為何。

（七）針對資料庫裡的體重欄位方面，每一次的就醫都應確實量體重，因在治療期間體重會有變化，故用藥劑量會產生改變。

（八）魏醫師建議是否將藥敏資料也進入系統篩選，因藥敏會影響病人的用藥歷程。

三、臨時動議：無。

四、決議事項：

目前程式已完成撰寫，尚在測試中，將再修正。

研究結果將呈現 Packages 錯誤、劑量錯誤、用藥天數錯誤等。針對資料庫的問題作說明。

因計畫開始執行時間在資料的取得方面有些延後，有些目標可能無法完全達成，然將進入結案報告繳交時程，故將就目前執行的結果、專家之建議與修正進

行結案報告之整理。

散會（18 時 00 分）

附錄六、程式內容

```
libname B 'H:\TB plan\Test all';
/*B.all 為讀入檔案:test2-1a.xls*/

/**[Step 1]--確定藥物組合 留下需要的變項***/
data B; set B.all ;
if ms_2='Y' then INH=1;else INH=0;
if ms_3='Y' then RMP=1;else RMP=0;
if ms_4='Y' then PZA=1;else PZA=0;
if ms_5='Y' then EMB=1;else EMB=0;
if ms_9='Y' then SM=1;else SM=0;
if ms_14='Y' then RFT=1;else RFT=0;
if ms_15='Y' then RFN=1;else RFN=0;
    /* 先確定藥物組合是否正確 drug_gp=0 為組合錯誤 [人數分布為附表一]*/
    if INH+RMP+EMB+PZA=4 and SM+RFT+RFN=0 then drug_gp=1;
else if RFT+EMB=2 and INH+RMP+PZA+SM+RFN=0 then drug_gp=2;
else if RFN+EMB+PZA=3 and INH+RMP+SM+RFT=0 then drug_gp=3;
else if INH+RMP+PZA=3 and EMB+SM+RFT+RFN=0 then drug_gp=4;
else if INH+RMP+EMB=3 and PZA+SM+RFT+RFN=0 then drug_gp=5;
else if RFN+EMB=2 and INH+RMP+PZA+SM+RFT=0 then drug_gp=6;
else if INH+RMP=2 and PZA+EMB+SM+RFT+RFN=0 then drug_gp=7;
else if RFN=1 and INH+RMP+PZA+EMB+SM+RFT=0 then drug_gp=8;
else if INH+RMP+PZA+EMB+SM=5 and RFT+RFN=0 then drug_gp=9;
else if RFT+EMB+SM=3 and INH+RMP+PZA+RFN=0 then drug_gp=10;
else if RFN+PZA+EMB+SM=4 and INH+RMP+RFT=0 then drug_gp=11;
else drug_gp=0;

keep p_id data_date ms_1 ms_2 ms_3 ms_4 ms_5 ms_9 ms_14 ms_15 ms_29 v1_2 v1_3 v1_4 v1_5
v1_9 v1_14 v1_15
v2_2 v2_3 v2_4 v2_5 v2_9 v2_14 v2_15 v3_2 v3_3 v3_4 v3_5 v3_9 v3_14 v3_15 INH RMP PZA
EMB SM RFT RFN drug_gp ;
run;

/**[Step 2]-除錯 修改文字及數字***/
data c; set b;
```

```

/*全形半形文字更正 用藥顆數更正*/
if ms_1='2 1' then ms_1='21';
if v1_2='1/2' then v1_2='0.5';
if v1_3='2/3' then v1_3='0.5';if v1_3='1/2' then v1_3='0.7';
if v1_4='1/4' then v1_4='0.25';if v1_4='1/3' then v1_4='0.3';if v1_4='1/2' then v1_4='0.5';
if v1_5='3/4' then v1_5='0.75';if v1_5='3/2' then v1_5='1.5';
/*變項轉換為數字顆數 體重*/
drug_day=ms_1*1;
weight=ms_29*1;
INH_pc=v1_2*1;
RMP_pc=v1_3*1;
PZA_pc=v1_4*1;
EMB_pc=v1_5*1;
if SM=1 then SM_pc=1; /*因SM無顆數資料 為方便後續計算(顆數*頻次*劑量) 將變項設定為1 */
RFT_pc=v1_14*1;
RFN_pc=v1_15*1;
/*變項轉換為頻次*/
if v2_2='1' then INH_freq=1*1; else if v2_2='2' then INH_freq=1*2; else if v2_2='3' then
INH_freq=1*3; else if v2_2='4' then INH_freq=1*4; else if v2_2='5' then INH_freq=1/2; else if
v2_2='6' then INH_freq=1*3/7;
if v2_3='1' then RMP_freq=1*1; else if v2_3='2' then RMP_freq=1*2; else if v2_3='3' then
RMP_freq=1*3; else if v2_3='4' then RMP_freq=1*4; else if v2_3='5' then RMP_freq=1/2; else if
v2_3='6' then RMP_freq=1*3/7;
if v2_4='1' then PZA_freq=1*1; else if v2_4='2' then PZA_freq=1*2; else if v2_4='3' then
PZA_freq=1*3; else if v2_4='4' then PZA_freq=1*4; else if v2_4='5' then PZA_freq=1/2; else if
v2_4='6' then PZA_freq=1*3/7;
if v2_5='1' then EMB_freq=1*1; else if v2_5='2' then EMB_freq=1*2; else if v2_5='3' then
EMB_freq=1*3; else if v2_5='4' then EMB_freq=1*4; else if v2_5='5' then EMB_freq=1/2; else if
v2_5='6' then EMB_freq=1*3/7;
if v2_9='1' then SM_freq=1*1; else if v2_9='2' then SM_freq=1*2; else if v2_9='3' then SM_freq=1*3;
else if v2_9='4' then SM_freq=1*4; else if v2_9='5' then SM_freq=1/2; else if v2_9='6' then
SM_freq=1*3/7;
if v2_14='1' then RFT_freq=1*1; else if v2_14='2' then RFT_freq=1*2; else if v2_14='3' then
RFT_freq=1*3; else if v2_14='4' then RFT_freq=1*4; else if v2_14='5' then RFT_freq=1/2; else if
v2_14='6' then RFT_freq=1*3/7;
if v2_15='1' then RFN_freq=1*1; else if v2_15='2' then RFN_freq=1*2; else if v2_15='3' then
RFN_freq=1*3; else if v2_15='4' then RFN_freq=1*4; else if v2_15='5' then RFN_freq=1/2; else if
v2_15='6' then RFN_freq=1*3/7;

```

```

/*變項轉換為數字劑量*/
INH_dosage=v3_2*1;
RMP_dosage=v3_3*1;
PZA_dosage=v3_4*1;
EMB_dosage=v3_5*1;
SM_dosage=v3_9*1;
RFT_dosage=v3_14*1;
RFN_dosage=v3_15*1;
drop ms_1 ms_2 ms_3 ms_4 ms_5 ms_9 ms_14 ms_15 ms_29 v1_2 v1_3 v1_4 v1_5 v1_9 v1_14
v1_15
v2_2 v2_3 v2_4 v2_5 v2_9 v2_14 v2_15 v3_2 v3_3 v3_4 v3_5 v3_9 v3_14 v3_15 ;
run;

/**[Step 3]-除錯 挑出各變項可能的錯誤 並註解 [註解為附表二]**/
data d; set c;
    if drug_gp=0 then error='Combination';
else if data_date-0>=18988 /*27DEC2011*/ then error='Time          ' ;
else if weight=0 or weight>120 then error='Weight';
else if INH_pc>10 or RMP_pc>10 or PZA_pc>10 or EMB_pc>10 or RFT_pc>5 or RFN_pc>3 then
error='Drug_pc';
else if drug_day=0 then error='Drug_day';
else error='None';
run;

/**[Step 4]- 只用剩餘的正確資料來計算容忍範圍 (n=18954); 並計算處方是否標準 [註解為附
表三]**/
data e; set d ;
if error='None';
    /*體重無資料:則容忍下限為0,上限為容許的MAX; 體重有資料:則容忍下限為KG*Tab,上限
為容許的MAX*/
    if INH=1 and weight=. then do INH_dose_down=0 ; INH_dose_up=300; end;
else if INH=1 and weight^=. then do INH_dose_down=weight*5 ; INH_dose_up=300;end;
    if RMP=1 and weight=. then do RMP_dose_down=0 ; RMP_dose_up=600; end;
else if RMP=1 and weight^=. then do RMP_dose_down=weight*10 ; RMP_dose_up=600;end;
    if PZA=1 and weight=. then do PZA_dose_down=0 ; PZA_dose_up=2000 ; end;
else if PZA=1 and weight^=. then do PZA_dose_down=weight*25 ; PZA_dose_up=2000 ;end;
    if EMB=1 and weight=. then do EMB_dose_down=0 ; EMB_dose_up=1600 ; end;
else if EMB=1 and weight^=. then do EMB_dose_down=weight*15 ; EMB_dose_up=1600 ;end;

```

```

        if SM=1 and weight=, then do SM_dose_down=0 ; SM_dose_up=1000 ; end;
else if SM=1 and weight^=, then do SM_dose_down=weight*15 ; SM_dose_up=1000 ;end;
        if RFN=1 and weight=, then do RFN_dose_down=0 ; RFN_dose_up=600 ; end;
else if RFN=1 and weight^=, and weight<=50 then do RFN_dose_down=weight*10 ;
RFN_dose_up=450 ;end;
else if RFN=1 and weight^=, and weight>50 then do RFN_dose_down=weight*10 ;
RFN_dose_up=600 ;end;
        if RFT=1 and weight=, then do RFT_dose_down=0 ; RFT_dose_up=2250 ; end;
else if RFT=1 and weight^=, then do RFT_dose_down=weight*45 ; RFT_dose_up=2250 ;end;
        /*若容忍下限"大於"容忍上限 則將上限改為最大值,將下限改為0 */
if INH_dose_down>INH_dose_up then do INH_dose_up=INH_dose_down; INH_dose_down=0;end ;
if RMP_dose_down>RMP_dose_up then do RMP_dose_up=RMP_dose_down;RMP_dose_down=0 ;
end;
if PZA_dose_down>PZA_dose_up then do PZA_dose_up=PZA_dose_down;PZA_dose_down=0; end;
if EMB_dose_down>EMB_dose_up then do EMB_dose_up=EMB_dose_down;EMB_dose_down=0;
end;
if SM_dose_down>SM_dose_up then do SM_dose_up=SM_dose_down;SM_dose_down=0; end;
if RFN_dose_down>RFN_dose_up then do RFN_dose_up=RFN_dose_down;RFN_dose_down=0;end;
if RFT_dose_down>RFT_dose_up then do RFT_dose_up=RFT_dose_down;RFT_dose_down=0;end;
        /*若各藥物開立之藥物劑量在範圍內則註記為1,其餘為0*/
if INH=1 and INH_dose_down<=(INH_pc*INH_freq*INH_dosage)<=INH_dose_up then
INH_presc=1; else INH_presc=0;
if RMP=1 and RMP_dose_down<=(RMP_pc*RMP_freq*RMP_dosage)<=RMP_dose_up then
RMP_presc=1; else RMP_presc=0;
if PZA=1 and PZA_dose_down<=(PZA_pc*PZA_freq*PZA_dosage)<=PZA_dose_up then
PZA_presc=1; else PZA_presc=0;
if EMB=1 and EMB_dose_down<=(EMB_pc*EMB_freq*EMB_dosage)<=EMB_dose_up then
EMB_presc=1; else EMB_presc=0;
if SM=1 and SM_dose_down<=(SM_pc*SM_freq*SM_dosage)<=SM_dose_up then SM_presc=1;
else SM_presc=0;
if RFN=1 and RFN_dose_down<=(RFN_pc*RFN_freq*RFN_dosage)<=RFN_dose_up then
RFN_presc=1; else RFN_presc=0;
if RFT=1 and RFT_dose_down<=(RFT_pc*RFT_freq*RFT_dosage)<=RFT_dose_up then
RFT_presc=1; else RFT_presc=0;
        /*若藥物組合劑量皆正確則註記為'Standard'; 有任一劑量不在容忍範圍則被註記為
'unqualified'*/
if drug_gp=1 and INH_presc+RMP_presc+EMB_presc+PZA_presc=4 then prescription='Standard
';

```

```

else if drug_gp=2 and RFT_presc+EMB_presc=2 then prescription='Standard ' ;
else if drug_gp=3 and RFN_presc+EMB_presc+PZA_presc=3 then prescription='Standard ' ;
else if drug_gp=4 and INH_presc+RMP_presc+PZA_presc=3 then prescription='Standard ' ;
else if drug_gp=5 and INH_presc+RMP_presc+EMB_presc=3 then prescription='Standard ' ;
else if drug_gp=6 and RFN_presc+EMB_presc=2 then prescription='Standard ' ;
else if drug_gp=7 and INH_presc+RMP_presc=2 then prescription='Standard ' ;
else if drug_gp=8 and RFN_presc=1 then prescription='Standard ' ;
else if drug_gp=9 and INH_presc+RMP_presc+PZA_presc+EMB_presc+SM_presc=5 then
prescription='Standard ' ;
else if drug_gp=10 and RFT_presc+EMB_presc+SM_presc=3 then prescription='Standard ' ;
else if drug_gp=11 and RFN_presc+PZA_presc+EMB_presc+SM_presc=4 then
prescription='Standard ' ;
else prescription='unqualified';
run;

```

/**[Step 5]- 用標準處方劑量計算實際用藥天數 ***/

/*共6122筆資料 */

```

data f; set e; if prescription='Standard ' ;keep p_id drug_gp drug_day ;run;
proc sort data=f; by p_id drug_gp;run;
/*依據drug_gp計算每種組合作用藥天數*/
data g; set f; retain new_drug_day 0 ;if first.drug_gp then do new_drug_day=0; by p_id
drug_gp ;end ;
new_drug_day=new_drug_day+drug_day;drop drug_day ; if last.drug_gp then output; run;

proc freq data=g; table drug_gp;run;

```

/**[Step 6]- 計算各組合作用藥天數是否有達到標準 標準則註記為'Success' ***/

```

%macro a( );%do num=1 %to 11;
data g&num. ; set g; if drug_gp=&num.; combo&num.=1 ; rename
new_drug_day=new_drug_day&num.; drop drug_gp;run;
proc sort data=g&num.; by p_id;run;
%let num=%eval(&num);%end; %mend a; %a( );
data h; merge g1 g2 g3 g4 g5 g6 g7 g8 g9 g10 g11; by p_id ;
if combo1=1 and new_drug_day1>=56 and combo5=1 and new_drug_day5>=112 then do
final='Success'; package=1;end;*1-5;
else if combo1=1 and new_drug_day1>=56 and combo6=1 and new_drug_day6>=112 then do
final='Success'; package=1;end;*1-6;

```

else if combo1=1 and new_drug_day1>=56 and combo7=1 and new_drug_day7>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*1-7;
 else if combo1=1 and new_drug_day1>=56 and combo8=1 and new_drug_day8>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*1-8;
 else if combo2=1 and new_drug_day2>=56 and combo5=1 and new_drug_day5>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*2-5;
 else if combo2=1 and new_drug_day2>=56 and combo6=1 and new_drug_day5>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*2-6;
 else if combo2=1 and new_drug_day2>=56 and combo7=1 and new_drug_day6>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*2-7;
 else if combo2=1 and new_drug_day2>=56 and combo8=1 and new_drug_day8>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*2-8;
 else if combo3=1 and new_drug_day3>=56 and combo5=1 and new_drug_day5>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*3-5;
 else if combo3=1 and new_drug_day3>=56 and combo6=1 and new_drug_day6>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*3-6;
 else if combo3=1 and new_drug_day3>=56 and combo7=1 and new_drug_day7>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*3-7;
 else if combo3=1 and new_drug_day3>=56 and combo8=1 and new_drug_day8>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*3-8;
 else if combo4=1 and new_drug_day4>=56 and combo5=1 and new_drug_day5>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*4-5;
 else if combo4=1 and new_drug_day4>=56 and combo6=1 and new_drug_day6>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*4-6;
 else if combo4=1 and new_drug_day4>=56 and combo7=1 and new_drug_day7>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*4-7;
 else if combo4=1 and new_drug_day4>=56 and combo8=1 and new_drug_day8>=112 then do
 final='Success'; package=1;end;*4-8;
 else if combo9=1 and new_drug_day9>=56 and combo1=1 and new_drug_day1>=28 and combo5=1
 and new_drug_day5>=140 then do final='Success'; package=2;end;*9-1-5;
 else if combo9=1 and new_drug_day9>=56 and combo1=1 and new_drug_day1>=28 and combo6=1
 and new_drug_day6>=140 then do final='Success'; package=2;end;*9-1-6;
 else if combo9=1 and new_drug_day9>=56 and combo2=1 and new_drug_day2>=28 and combo5=1
 and new_drug_day5>=140 then do final='Success'; package=2;end;*9-2-5;
 else if combo9=1 and new_drug_day9>=56 and combo2=1 and new_drug_day2>=28 and combo6=1
 and new_drug_day6>=140 then do final='Success'; package=2;end;*9-2-6;
 else if combo9=1 and new_drug_day9>=56 and combo3=1 and new_drug_day3>=28 and combo5=1
 and new_drug_day5>=140 then do final='Success'; package=2;end;*9-3-5;

```

else if combo9=1 and new_drug_day9>=56 and combo3=1 and new_drug_day3>=28 and combo6=1
and new_drug_day6>=140 then do final='Success'; package=2;end;*9-3-6;
else if combo10=1 and new_drug_day10>=56 and combo1=1 and new_drug_day1>=28 and combo5=1
and new_drug_day5>=140 then do final='Success'; package=2;end;*10-1-5;
else if combo10=1 and new_drug_day10>=56 and combo1=1 and new_drug_day1>=28 and combo6=1
and new_drug_day6>=140 then do final='Success'; package=2;end;*10-1-6;
else if combo10=1 and new_drug_day10>=56 and combo2=1 and new_drug_day2>=28 and combo5=1
and new_drug_day5>=140 then do final='Success'; package=2;end;*10-2-5;
else if combo10=1 and new_drug_day10>=56 and combo2=1 and new_drug_day2>=28 and combo6=1
and new_drug_day6>=140 then do final='Success'; package=2;end;*10-2-6;
else if combo10=1 and new_drug_day10>=56 and combo3=1 and new_drug_day3>=28 and combo5=1
and new_drug_day5>=140 then do final='Success'; package=2;end;*10-3-5;
else if combo10=1 and new_drug_day10>=56 and combo3=1 and new_drug_day3>=28 and combo6=1
and new_drug_day6>=140 then do final='Success'; package=2;end;*10-3-6;
else if combo11=1 and new_drug_day11>=56 and combo1=1 and new_drug_day1>=28 and combo5=1
and new_drug_day5>=140 then do final='Success'; package=2;end;*11-1-5;
else if combo11=1 and new_drug_day11>=56 and combo1=1 and new_drug_day1>=28 and combo6=1
and new_drug_day6>=140 then do final='Success'; package=2;end;*11-1-6;
else if combo11=1 and new_drug_day11>=56 and combo2=1 and new_drug_day2>=28 and combo5=1
and new_drug_day5>=140 then do final='Success'; package=2;end;*11-2-5;
else if combo11=1 and new_drug_day11>=56 and combo2=1 and new_drug_day2>=28 and combo6=1
and new_drug_day6>=140 then do final='Success'; package=2;end;*11-2-6;
else if combo11=1 and new_drug_day11>=56 and combo3=1 and new_drug_day3>=28 and combo5=1
and new_drug_day5>=140 then do final='Success'; package=2;end;*11-3-5;
else if combo11=1 and new_drug_day11>=56 and combo3=1 and new_drug_day3>=28 and combo6=1
and new_drug_day6>=140 then do final='Success'; package=2;end;*11-3-6;
run;

```

子計畫編號：4-4

子計畫名稱：東台灣的結核病防治計畫

主持人：李仁智

摘要

一、加強山地鄉結核病防治

花蓮縣山地鄉依然是結核病的高發病地區，三個山地鄉確診個案為 77 位（100 年 1 月至 9 月底），接觸者接受胸部 X 光檢查有 625 位，平均每位確診個案檢查 8.12 人。檢查出 11 位疑似結核病人，經進一步檢查，確診有 8 位，3 位排除診斷，確診病人比率為 1.28%，這表示接觸者檢查的成效良好。

個案治療方面，因為研究時間很短，大部分病人尚在治療中，目前無法評估。

二、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

自 96 年迄今花東地區多重抗藥性肺結核病人已有 124 位，接觸者檢查共完成 599 位，有效者 592 位。592 名受試者，QFT 陽性（55.1%）、TST 陽性（52.4%），陽性率均在 50% 以上。

這表示東台灣地區的潛伏性感染非常嚴重。本研究也顯示，原住民接觸者的潛伏性感染遠高於非原住民接觸者，（QFT60.5% VS.30.6%），（TST54.1%VS.44.4%），這或許是因為山地鄉的結核病發生率遠高於非山地鄉。

本研究將持續追蹤 QFT 陽性或 TST 陽性的接觸者，以早期發現疾病早期可以治療。

三、再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

目的：探討於，對第一線抗結核藥物全敏感的新發生肺結核病患者中，其部分患者於肺結核再治時，對結核藥物耐藥性的出現，並利用分子醫學工具來鑑定再治肺結核病患之前後肺結核菌株屬復發抑或再度感染。

背景：佛教慈濟綜合醫院的分枝桿菌實驗室是台灣東部唯一的實驗室，進行結核分枝桿菌的抗結核藥物敏感測驗(DST)。由於台灣東部地區的所有結核分枝桿菌菌株，被送到該實驗室，它是可以執行台灣東部的抗結核病耐藥性監測。

方法：這是一個在台灣東部進行的回顧性研究，所有培養陽性的新發結核病例，從 2004 年至直到 2009 年底，共有 2179 新病例進行了 DST，其中 1815（83.3%）是對所有一線藥物（HRES）敏感。其中，92 例（5.1%）患者再度發病被歸列為結核病再治病患，進一步可細分為 3 類，即治療成功後復發，治療失敗後再治和治療失落後再治。

結果：92位再治結核病患者中，36人治療成功後復發，6人治療失落後再治，50人治療失敗後再治。92位病患中，77.2%為男性，平均年齡為 52.9 ± 35.3 歲。對任何第一線抗結核藥物產生耐藥性的比率為 29.3%，(治療成功後復發為25.0%；治療失落再治組16.7%；治療失敗再治組為34.0%)。Isoniazid 耐藥性的總發生率為 27.2%，(治療成功後復發組：19.4%；治療失落再治組：16.7%；治療失敗再治組：34.0%)。Rifampin 耐藥的總發生率為 25%，(治療成功後復發為22.2%；治療失落再治組：16.7%；治療失敗再治組:28.0%)。多重抗藥結核病總發生率是22.8% (治療成功後復發組：16.7%；治療失落再治組：16.7%；治療失敗再治組：28.0%)。鏈黴素抗藥性的總發生率為 14.1%，治療成功後復發組:8.3%；治療失落再治組：16.7%；治療失敗再治組：18.0%)。Ethambutol耐藥性的發生率為 9.8%，(治療成功後復發組：11.1%；治療失落再治組：0%；治療失敗再治組：10.0%)。

結論：世衛組織來自10個國家的監測數據發現 MDR-TB的比例，於治療成功後復發或治療失落後再治的結核患者可達32%。而於治療失敗後再治結核患者可達49%。在我們的研究中MDR-TB的比率遠低於世界衛生組織的監測數據。

中文關鍵詞：結核病、山地鄉、接觸者、多重抗藥結核病、QFT、TST、潛伏性感染、再治、東台灣、抗藥性

壹、前言

本研究計畫主要目的為加強台灣東部地區結核病之防治，以降低東台灣地區結核病發生率，主要分成三大主題：加強山地鄉結核病防治、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測與再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析。

一、加強山地鄉結核病防治

山地鄉的結核病問題依然嚴重-結核病死亡率和發生率遠高於非山地鄉，98 年山地鄉發生率仍高於全國 3 倍（每十萬人口 206：62）。其中又以花蓮縣的山地鄉更加嚴重（表一，表二）。

依據高瑋蘋研究的 1971-2007 年山地鄉與非山地鄉死亡率的變化，山地鄉從 1971-1977 年年齡標準化死亡率為每十萬人口 156.2，比起非山地鄉每十萬人口 37.6 來得高(4.2 倍)，然而至 1998-2007 年山地鄉年齡標準化死亡率降至每十萬人口 35.7，卻仍是比起非山地鄉每十萬人口 5.3 高出許多(6.7 倍)【圖一】。[1]山地鄉與非山地鄉結核病年齡標準化死亡率皆隨著年代呈現下降的趨勢，但是其下降的速度卻是相差極大。以下降率來看，山地鄉死亡率下降趨勢比起非山地鄉來得緩慢，山地鄉的結核病年齡標準化死亡率下降率為 -77.14%，而非山地鄉下降率為 -85.9%，下降率的不同也呈現出山地鄉與非山地鄉之間差距增加的現實【圖一】。[1]日治時期至 1957 年間，官方並未針對山地鄉結核病問題，進行專案計畫，只是與一般防癆工作同時辦理。自 1957 年起，開始針對山地鄉結核病防治辦理特殊計畫，進行山地結核病防治計畫檢查，為期兩年半，由衛生處派巡迴車隊，為全部居民做胸部 X 光檢查，結核菌素測驗、驗痰與給藥。[2]

省防癆局在 1966 年於花蓮縣三個山地鄉，全面進行綜合防癆。在 1970~1974 年實行第一期山地鄉結核病防治五年計畫，1978~1982 年實行第二期的山地鄉結核病防治五年計畫，1988~1990 年實行山地鄉綜合防癆計畫，1995 年開始辦理山地鄉結核病人住院治療補助計畫，設籍山地鄉的居民及非居住山地鄉的原住民病人，可在療程最初 2 個月至合約醫院免費住院治療，住院期間不僅免健保自付額，並補助病患伙食費，每月零用金 3000 元及家庭生活補助費，以提高治療成功率。1997 年開辦山地鄉加強巡迴防癆計畫。行政院衛生署疾病管制局自 2006 年 4 月起推動「結核病十年減半全民動員計畫」，全力推廣結核病人直接觀察治療計畫(簡稱都治計畫，DOTS)。DOTS 策略是以受過相關訓練之關懷員在最有效藥物組合下，完成「送藥到手、服藥入口、吃完再走」的一種過程，期望可以使結核病的治療成功率達到 85%以上。雖然現行的防治措施已在施行，但急需依山地鄉特性加強防治模式以加速解決問題。[2-5]

二、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

本研究的目的是針對東部地區之多重抗藥結核病患共一百多人之親密接觸者，進行潛伏性結核菌感染之檢查，藉以了解在台灣東部地區目前多重抗藥結核病的傳染現況。並且藉由篩選多重抗藥結核病病患接觸者，早期診斷潛伏感染，早期納入追蹤，以便早期偵測多重抗藥結核病病患。

衛生署疾病管制局「結核病十年減半全民動員計畫草案」，廣納專家學者建言，結合公衛、醫療、檢驗三大網絡，以發現病人(Find TB)、治癒病人(Cure TB)為主要策略，並發動民間組織及政府相關部門共同參與結核病防治，並於2006年4月開始全台灣的都治計畫。2007年4月實施之建構MDR結核病醫療體系—都治進階(DOTS-Plus)專案照護，希望一旦有多重抗藥病患，必須轉介至MDR結核病醫療體系進行二線藥物的藥物敏感試驗及二線藥物的治療。結核病作為一種空氣傳播感染，與多重抗藥性結核病病患之接觸者有可能導致發展成多重抗藥性結核病病患。因此，找出感染者，並密切監察其感染狀態，以防止多重抗藥性結核病的產生。潛伏性結核感染(LTBI)發生在一個人感染了結核桿菌，感染者仍有10%的機率會發病。[6]提早找出潛伏性結核感染者並追蹤在結核病的預防上是非常重要的。診斷病患是否有感染到結核分枝桿菌或者有潛伏，以往唯一的依據就是延遲性的過敏反應(delayed type hypersensitivity)。主要是實施結核菌素皮膚試驗(tuberculin skin test, TST)，這是一個已經具有一百年歷史的老方法。將結核菌素2 tuberculin units (TU)，purified protein derivative (PPD) 注入皮下，若有感染結核菌，則經由第四型細胞免疫，在皮膚上呈現紅腫硬塊。48-72小時之後觀察其皮膚結節的大小及反應來判斷，一般健康人判斷陽性標準為：有卡介苗施打的族群定在硬塊 $\geq 15\text{mm}$ ，未接受過卡介苗的族群為硬塊 $\geq 10\text{mm}$ 。但TST在有施打卡介苗的地區會有高比率的偽陽性；[7,8]然而目前已有新的技術發展完成，是利用人體對結核菌主動產生獲得性的免疫(adaptive immunity)。利用結核菌特有的抗原刺激釋放細胞激素，尤其是丙型干擾素($\text{INF-}\gamma$)，[7-14]診斷潛伏感染及活動性疾病。利用Interferon-gamma release assays (IGRAs)之原理，偵測T細胞免疫對結核的反應，但是無法區別潛伏性或是活動性結核。此方法可以克服TST部分的缺點，包括只需要抽血一次不需要回診，經由儀器判斷，具有客觀性，最重要的是不會因卡介苗施打或非結核分枝桿菌感染產生偽陽性。利用結核菌特有的抗原刺激釋放細胞激素 $\text{INF-}\gamma$ ，來診斷潛伏感染及活動性疾病。結核菌特有的抗原，以ESAT-6 (early secretory antigen target 6KDa) 與CFP-10 (cell filtrate protein 10KDa) 是目前廣泛使用於診斷潛伏結核分支桿菌的主要抗原。QuantiFeron-TB (QFT)是IGRA試驗第一個通過美國FDA批准作為輔助診斷結核分枝桿菌感的試劑。利用酵素連結免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)來衡量 $\text{INF-}\gamma$ 釋放反應。2004年通過可用於診斷潛伏性結核病

患，[7]QFT 試劑目前已發展到第三代。第一代的產品是使用純化的結核蛋白 PPD 作為主要的蛋白，缺點是易與卡介苗衝突，而影響其準確性。而 QFT 試劑第二代產品(QuantiFeron-TB Gold) 是使用結核分枝桿菌特異的抗原 ESAT-6 及 CFP-10 來刺激病患全血中的 T 細胞，看其是否產生 INF- γ ，若有則代表已產生結核菌感染原。目前第三代產品(QuantiFeron-TB Gold in tube, QFT-GIT)，其使用之抗原為 ESAT-6 及 CFP-10 與 TB7.7。文獻顯示 QFT-GIT 敏感度為 81%。若侷限在已開發國家，則敏感度增加到 84%，特異性則高達 99%。[14]近年來已有相當多的文章討論有關 QFT 試驗與結核菌素皮膚試驗，發現在未接受卡介苗的族群中，結核菌素皮膚測驗與 QFT 試驗有高達 94% 的一致性，而 QFT 試驗在高危險或低危險的族中不論是否接受過卡介苗其陽性率相當，這表示 QFT 試驗較不受卡介苗影響。[9]因此 QFT 試驗可運用在卡介苗高度接種的台灣。國際間對於 QFT 試驗與結核菌素皮膚試驗兩個的判讀結果可區分為：一、結核菌素皮膚試驗陰性且 QFT 試驗陰性，此類病患表示並未感染結核病；二、結核菌素皮膚試驗陽性且 QFT 試驗陰性，此類病患雖感染結核病，但為健康感染者或者若其曾接種過卡介苗則可能為卡介苗所造成之結果；三、結核菌素皮膚試驗陽性且 QFT 試驗陽性，此類病患為結核病感染者，且為高危險群亦為可能發病之族群；四、結核菌素皮膚試驗陰性但 QFT 試驗為陽性，此族群為對結核菌素皮膚試驗失能(anergy)，雖感染結核病但為健康之感染者。QFT 試驗是目前國際間最新檢測潛伏肺結核的試劑，可用於取代已使用百年的結核菌素皮膚試驗 (tuberculin skin test, TST)，只需抽一次血即可。

三、再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

根據世界衛生組織定義，再度治療之結核病，其定義為過去至少服用抗結核藥物一個月以上但未能獲得痊癒，其又可分成三類：

1. 治療成功再發 (treatment success, relapse) 其定義為病患接受第一線抗結核藥物完整療程治癒後，再次發生痰液培養陽性之結核病。
2. 失落再治 (treatment after default) 其定義為結核病患終止治療至少兩個月以上，再度接受抗結核藥物治療時仍呈現痰液培養陽性之結果。
3. 治療失敗再治 (treatment after failure) 其定義為首治肺結核病患接受超過五個月以上抗結核藥物治療，但痰液中仍持續呈現結核菌培養陽性之結果。

於 2000 年，WHO 的全球結核病調查報告顯示，於再治之肺結核個案，其痰中結核菌，對至少一種抗結核藥物，產生抗藥性之盛行率為 23.3%；此外，多重抗藥性結核菌 (MDR-TB) 於再治個案的盛行率更高達 9.3% [15]。據泰國 2004 年報告指出，高度比例對 INH 或 RIF 抗藥之肺結核菌株若使用 2HRZE/HR 治療其發展為多重抗藥性肺結核之比例將大為增加 [16]。

而關於肺結核再治個案，分析監控其屬肺結核復發或是再感染，於台灣本地相關調查亦較為不足。於 2004 年，據台灣台北進行之相關調查指出，超過 40% 的再治肺結核病患，其於再治時，其痰內之結核菌株，產生對一種以上抗結核藥物之抗藥性；其中四分之一更屬多重抗藥性結核菌[17]。這種於再治之結核病人中，對抗結核藥物產生高耐藥性之情況，大多數並非於肺結核治療初期時，這些菌株已具有此種抗藥性，然而，社區中結核的個案管控不佳，健康照護系統不能確保個案之服藥遵從性，都將造成病人治療中斷與治療失敗，甚而一些原本認定已被治癒的肺結核之病人，經過數月或數年後又復發，從而演變為抗藥性肺結核，尤其失落再治的病人，通常服藥之遵行性較差，容易中斷其治療，對此族群再次治療時，需特別注意病人服藥遵從性之問題，值得注意的是，台北的研究結果顯示，有相當比例的肺結核復發及失落再治的病人，其感染的結核菌株已對 Isoniazide 產生抗藥性，並持續對環境散播結核桿菌，這是給吾等從事肺結核防治工作的一個警訊。台北之前的研究結果顯示，失敗再治的病人發展出多重抗藥性結核菌之機率可達 66.7%。抗藥性之高盛行率反應的是我們社會中健康照護系統所能提供的整體治療品質，治療照護系統若不能確實針對新發生肺結核個案，做到永久性治癒，將導致新發現之肺結核個案，轉成再治結核病患，並且會增加抗藥性結核菌的產生，而治療多重抗藥性結核菌的病人所需付出的社會成本，將遠高於處理不具抗藥性之肺結核病人。

據 2006 年相關資料指出，台灣結核發病率是每十萬人口 67.4 人次，而在東台灣為每十萬人 114.1 人，遠高於台灣整體發病率。於 2001 年至 2002 年間台灣東部多重抗藥結核病於新發生結核病例中盛行率為 2.1%。但在 2004 年至 2008 年，則增加至 5.11%（未發表數據）。此外，於 2008 年 3 月，台灣疾病管制局約登記了 412 位多重抗藥結核病患者（MDR-TB），而其中 77 位(18.6%)是東台灣居民，然而台灣東部地區的人口卻僅佔台灣總人口的 2%。吾等認為。目前較多數結核控制之研究仍聚焦於新發現之結核個案部份，對於再治之肺結核防治之相關探討仍相對較少。因此，於結核病相對盛行之東台灣地區，針對再治之肺結核病患，進行個案復發與再感染情況及結核菌株發展出抗藥性等相關研究，對於肺結核的整體防治工作上，實屬必要。

本研究計畫針對肺結核再度治療(re-treatment)患者為對象，進行回溯性研究，具體目的有三：

1. 針對再治肺結核病患，於其首次及再次註冊進行結核病治療時，利用分子流病調查之工具，如 Spoligotyping 及 MIRU-VNTR 之方式，進行其痰液標本中之結核菌基因型之分析。藉以幫助釐清個案之所以再度治療，屬復發 (relapse) 或再次感染 (re-infection) 導致。並完成台灣東部地區，再治肺結核病患之結核菌株基因型的分子流行病學調查。
2. 分析納入之再治肺結核病患，於首次及再次註冊進行結核病治療時，運用藥

敏試驗 (DST)，其痰液標本中之結核菌之耐藥表現型之前後改變。同時可調查再治療肺結核病患痰液中結核菌株，對第一線抗結核藥物產生耐藥性之盛行率。

3. 探討再治之肺結核病患，於首次及再次註冊進行結核病治療時，其痰液標本中之結核菌株之基因型與耐藥表現型之間的相關性。

再治之結核病患，於我們的社會中，是散播耐藥性肺結核之重要來源。針對再治肺結核研究之成果，更足以展現一個國家之結核政策是否成功。我們預估以一年之時間可完成台灣東部地區，分析、追蹤與監控肺結核個案復發與再感染情況之調查。

貳、材料與方法

一、加強山地鄉結核病防治

結核病的防治重點在：1. 個案發現 2. 個案治療。

1. 個案發現

a. 接觸者檢查：依據防治工作手冊的規定加強接觸者檢查，指標個案確診一個月內和一年後分別實施一次接觸者胸部X光檢查。並且評估此兩次X光檢查的病人發現成效，以為日後政策制定的參考。[18-23]

b. 實驗室檢查及通報：慈濟醫院的結核菌實驗室是台灣東部唯一的代檢實驗室，花東兩縣的檢體都會送到此實驗室做塗片及培養，如陽性會實施實驗室通報，每週一將塗片陽性和培養陽性的報告轉寄花蓮縣衛生局以便早期通報。每週進入疾病管制局通報網站，收集各醫療院所通報的三個山地鄉結核病患，主動聯絡確定是否收集痰檢體進行檢驗，並追蹤結核菌培養結果。

c. 加強社區結核病篩檢：將配合花蓮縣衛生局及疾病管制局第六分局到社區免費篩檢結核病。

2. 個案治療

a. 都治策略：行政院衛生署疾病管制局自2006年4月起推動「結核病十年減半計畫」，全力推廣結核病人直接觀察治療計畫(簡稱都治計畫，DOTS)。DOTS策略是以受過相關訓練之關懷員完成「送藥到手、服藥入口、吃完再走」的一種任務，期望可以使結

核病的治療成功率達到85%以上。都治關懷員都是聘請在地的原住民同胞，他們與結核病患講著相同的語言，在部落裡成長，無論是對於部落的地形，病患的工作地點，都十分的清楚，所以若是病患不在家的時候，關懷員就會辛勤地去找到病患，無論是上山下海使命必達，將抗結核藥物送到病患手中。[24]

b.個案管理師：依慈濟醫院鄭心宜個案管理師的研究結果，有接受個案管理師管理的病人治療成功率顯著高於一般管理的病人分別 88.4%、65.1%， $p<0.001$ 。[25]將在三個山地鄉各聘用一位山地鄉個案管理師。

收案對象：2011年新通報的結核菌培養陽性病人。

個案管理：協助都治關懷員的直接監督治療，協助完成接觸者檢查工作。對於經濟困難個案尋求社會資源相助。

c.醫學中心的支援：花蓮慈濟醫學中心是東部唯一的醫學中心，醫學中心的胸腔科主治醫師熟悉結核病的診治，指派醫學中心的胸腔科主治醫師各個山地鄉一個專責醫師負責該鄉結核病病人的診治、副作用的處置和抗藥性結核病人的特殊治療，提供專業諮詢，以減少病人的死亡率和失敗率，提升病人的治療成功率。[26-30]

d.加強社區衛教：將配合花蓮縣衛生局及疾病管制局第六分局到社區舉辦結核病衛教活動。

二、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

利用 interferon- gamma releasing assay (IGRA) 法之 QuantiFeron-TB gold in tube 試劑[31]和結核菌素皮膚試驗來偵測個案接觸者是否為潛伏或已發病的結核感染病患之探討。並且請受試者填寫同意書及設計問卷蒐集基本病史及相關變項、QFT-TB Gold in tube 試驗及結核菌素皮膚試驗進行篩檢及相關分析。

三、再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

1. 實驗設計與病人特點

於台灣疾病管制局東部結核病合約實驗室(花蓮慈濟醫學中心結核病實驗室)為基地，從 2004 年 6 月至 2009 年 1 月，共有 2179 培養陽性的新發結核病例，其中 1815 (83.3%) 是向所有一線藥物 (HRES) 全敏感。其中，92 例 (5.1%) 患者因為培養陽性接受再度治療(re-treatment)。進一步細分為 3 類，即治療成功再發 (treatment success, relapse)、失落再治 (treatment after default)、治療失敗再治 (treatment after failure)。納入本研究之條件為，其首

次診斷註冊為肺結核患者時，於進行抗結核藥物治療前，其痰液標本中的結核菌株對第一線抗結核藥物（HRES）呈現全敏感之表現型；而後因再發、失落再治或治療失敗再治等原因，而再次註冊進行結核病治療（再度治療）。根據其臨床狀況不同，將此 92 位病患分成：治療成功再發，失落再治，治療失敗再治三大類。將使用標準格式以收集病人之年齡、性別、種族、居住地區及微生物學等臨床資料。

2. 基因分型方法

利用 Spoligotyping and MIRU-VNTR 的方法 取得各個結核分枝桿菌菌株的 DNA 基因分型及菌株聚集之分析。[32-34]

3. 耐藥性試驗

根據本實驗室標準流程，對第一線藥物，進行藥敏試驗（DST）[35]，以調查再治療肺結核病患，於首次及再次註冊進行結核病治療時，其痰液標本中之結核菌之耐藥表現型。

4. 統計分析

使用相關統計方式以分析東台灣再治肺結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性。

5. DNA 的提取

結核分枝桿菌菌株的 DNA 提取，將使用本實驗室標準步驟[32]。簡單說明即是，當結核分枝桿菌菌落於培養皿增長明顯時，將其刮起收集到 Tris-EDTA 緩衝液（pH 值 8.0），在 80°C，加熱 30 分鐘。再於每管中加入濃度為 1 毫克／毫升之溶菌，於 37°C 靜置 2 小時。之後依續加入特定濃度 SDS 和蛋白 K。每管經振盪後，在 65°C 時，靜置 20 分鐘，加入了 CTAB 和 0.1M NaCl 之混合液直到 NaCl 的濃度到達 0.6M。最後添加氯仿/異戊醇（24：1）之濃液，振盪後，在室溫下，以 13000 轉，離心 5 分鐘。DNA 將在水相分離，並以乙醇沈澱及懸浮在 30 微升 TE 緩衝液備用。

6. Spoligotyping

Spoligotyping 是根據 Kamerbeek 提出的方式進行[33]。利用每個和直接重複（DR）的區域特异性引物，用來擴增與檢測 DNA 樣本中的 43 個特異位置。擴增的 DNA，與相對特異之寡核 酸在膠膜上進行雜交，以結核分枝桿菌 H37Rv 株，牛分枝桿菌及卡介苗株於每個實驗中使用作為對照，利用生物素過氧化物（羅氏診斷，德國），增強化學發光檢測與檢測系統（Amersham 公司生物科技公司，英國）與國際數據庫 Spo1DB4.07 八進制代碼轉換，可取得各個結核分枝桿菌菌株的 DNA 基因分型。

7. MIRU-VNTR 的基因分型

利用設計引物，對原先 24 個 MIRU-VNTR 位點進行 PCR 擴增，對菌株進行基因分型[34]，擴增產物在 1.5% 瓊脂糖凝膠進行電泳，經溴化乙錠染色，紫外線照射後，對比 H37Rv 株，以估計擴增產物的長度及其拷貝數，推測其分子量差異做出菌株聚集之分析。

8. 耐藥性試驗

根據本實驗室標準流程，對第一線藥物，進行藥敏試驗（DST）[35]。以 1:10 稀釋的結核菌懸浮液將分別接種到含有藥物之培養皿與控制組培養皿上。當結核菌的生長，於含有藥物之培養皿上，其生長比例較之控制組培養皿 $>1\%$ 時，則認為有抗藥性產生。

9. 統計分析

使用相關統計方式以分析東台灣再治肺結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性

參、結果

一、加強山地鄉結核病防治

接觸者檢查部分(表三)，花蓮縣三個山地鄉確診個案為 77 位(統計自 100.1.1 至 100.9.30 止)，接觸者檢查人數共有 626 位，平均每位確診個案檢查 8.13 人。觀看各個山地鄉，其中，以秀林鄉之 7.14 人為最低。626 位接觸者中有 572 位正常，10 位異常無空洞，1 位異常有空洞，43 位異常無關結核病，因此有 11 位(1.76%)為疑似結核病人。這 11 位疑似結核病人，經過進一步的檢查，確診的有 8 位，有 3 位已排除診斷。在 626 位接觸者中，確診了 8 位結核病人，比率为 1.28%，這表示接觸者檢查的成效良好。

自今年一月至九月底止，慈濟醫院結核病實驗室向花蓮衛生局通報抹片陽性檢體有 271 筆，培養陽性的檢體有 270 筆。將重複的刪除後，實驗室通報了 179 位陽性病患。其中，花蓮縣有 107 位，其他縣市有 72 位。花蓮縣山地鄉共有 55 位(秀林鄉 29 位，萬榮鄉 11 位，卓溪鄉 15 位)。實驗室向花蓮衛生局通報的抹片及培養結果列於表四。

社區篩檢部分(表五-表七)，檢查人數共計 7118 人(秀林鄉 3684 位，萬榮鄉 1732 位，卓溪鄉 1702 位)，疑似 211 人(秀林鄉 131 位，萬榮鄉 49 位，卓溪鄉 31 位)，確診 21 人(秀林鄉 16 位，萬榮鄉 2 位，卓溪鄉 3 位)。

今年三月聘請 3 位研究助理展開訓練及收案工作，並分別在五、六、七月份於三個山地鄉各舉辦一場結核病訓練課程，請衛生所全體同仁共同參與。訓練課程中，各鄉山地個管師介紹本次計畫之宗旨意向，並報告執行情況，利用此種訓練課程，培養彼此合作的契機(結核病訓練課程列於附錄一-三)。

個案治療方面，三個山地鄉確診個案中，痰培養陽性之個案有 56 位。治療的成果因為研究時間很短，還無法評估，目前的結果有 3 位完治，5 位死亡，48 位仍在治療中。

二、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

自 96 年迄今花東地區多重抗藥性肺結核病人已有 124 位，接觸者檢查共完成 599 位，花蓮縣北區完成接觸者檢查 151 名，花蓮縣中區完成接觸者 151 名，花蓮縣南區完成接觸者 160 名，台東縣(市)完成接觸者 137 名，排除者 7 位，有效者 592 位。其中排除原因有 1 名檢體量不足，1 名 TST 未判讀完成，1 名同意書不齊全，4 名抽血結果不確定。(不確定原因可能與受試者的免疫系統有關)。

592 名受試者，QFT 陽性(55.1%)、TST 陽性(52.4%)，陽性率均在 50% 以上。

以性別區分，(表八)男性占受試者比例 45.6%、女性占受試者比例 54.4%，男性 QFT 陽性 55.2%、TST 陽性 53.0%，女性 QFT 陽性 55.0%、TST 陽性 51.9%，陽性率均在 50%以上。

以年齡區分，(表八)小於 30 歲占受試者比例 29.7%，31~50 歲占受試者比例 37.2%，大於 50 歲占受試者比例 33.1%，小於 30 歲 QFT 陽性 39.2%、31~50 歲 QFT 陽性 54.6%、大於 50 歲 QFT 陽性 69.9%，隨著年齡的遞增陽性率也提高。小於 30 歲 TST 陽性 42.6%，31~50 歲 TST 陽性 61.8%、大於 50 歲 TST 陽性 50.5%，年齡介於 31~50 歲的族群陽性率較高。

以種族區分，(表八)原住民占受試者比例 81.8%、非原住民占受試者比例 18.2%，原住民 QFT 陽性 60.5%、非原住民 QFT 陽性 30.6%，原住民 TST 陽性 54.1%、非原住民 TST 陽性 44.4%，原住民陽性率較高。

以症狀區分，(表八)沒有症狀占受試者比例 87.7%、體重減輕占受試者比例 0.3%、咳嗽大於二周占受試者比例 12.0%，沒有症狀 QFT 陽性 54.0%) 體重減輕 QFT 陽性 50.0%、咳嗽大於二周 QFT 陽性 63.4%，沒有症狀 TST 陽性 51.6%、體重減輕 TST 陽性 50.0%、咳嗽大於二周 TST 陽性 57.8%，咳嗽大於二周陽性率較高。

以關係區分，(表九)鄰居 QFT 陽性率較高 67.4%，配偶 TST 陽性率較高 72.7%。

以地區區分，(表十) QFT 陽性與 TST 陽性的山地鄉陽性率較高。

QFT 陽性率年齡分布百分比，(表十一)隨著年齡增加而提高。

TST 陽性率年齡分布百分比，(表十二)陽性率在 31~60 歲偏高。

592 筆中有 42 筆曾被通報結核病，其中有三筆為收案後才被通報。

三、再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

92 位再治結核病患者中，36 人屬治療成功後復發，6 人屬失落再治，50 人屬治療失敗再治。92 位病患中，77.2%為男性，平均年齡為 52.9 ± 35.3 歲。對任何第一線抗結核藥物產生耐藥性的比率為 29.3%，(治療成功後復發為 25.0%；治療失落再治組 16.7%；治療失敗再治組 34.0%)。Isoniazid 耐藥性的總發生率為 27.2%，(治療成功後復發組：19.4%；治療失落再治組：16.7%；治療失敗再治組：34.0%)。Rifampin 耐藥的總發生率為 25%，(治療成功後復發為 22.2%；治療失落再治組：16.7%；治療失敗再治組：28.0%)。多重抗藥結核病總發生率是 22.8% (治療成功後復發組：16.7%；治療失落再治組：16.7%；治療失敗再治組：28.0%)。鏈黴素抗藥性的總發生率為 14.1%，治療成功後復發組：8.3%；治療失落再治組：16.7%；治療失敗再治組：18.0%

%)。Ethambutol 耐藥性的發生率為 9.8%，(治療成功後復發組：11.1%；治療失落再治組：0%；治療失敗再治組：10.0%)。(見表十三)

經過臨床結核菌體蒐集與培養原本 92 位再治結核病患者，共有 49 組可做基因鑑定的前後比較。(見表十四)

- 1.治療成功後復發組：共 15 組。其前後兩組菌株，經 MIRU 基因鑑定，相同則定義為疾病復發(共 5 組)；其前後兩組菌株，經 MIRU 基因鑑定，不相同則定義為再度感染肺結核(共 3 組)；另有 7 組目前實驗室尚在鑑定中，於 3 週內將有報告。
- 2.治療失落再治組：共 3 組。其前後兩組菌株，經 MIRU 基因鑑定相同則定義為疾病復發(共 2 組)；其前後兩組菌株，經 MIRU 基因鑑定不相同則定義為再度感染肺結核(共 1 組)。
- 3.治療失敗再治組：共 31 組。其前後兩組菌株，經 MIRU 基因鑑定相同則定義為疾病復發(共 10 組)；其前後兩組菌株，經 MIRU 基因鑑定不相同則定義為再度感染肺結核(共 19 組)；另有 2 組目前實驗室尚在鑑定中，於 3 週內將有報告。

此外，待所有基因檢體定序後，將四種第一線抗結核藥物之耐藥性(表現型)與菌株基因型(包括 spoligotyping and MIRU)，與各個變數如年齡、種族、糖尿病之有無、性別等變項以迴歸統計方式探討。

肆、討論

一、加強山地鄉結核病防治

接觸者檢查的發現率非常高，表示品質良好，但是數量不夠，每位確診病例只找到 8.13 人，未達預期指標(10 人)。檢討原因有下列數點，1.努力不夠，針對目前無症狀的接觸者要求去檢查，動機不夠，常懶得去檢查。2.檢查須付費也是阻力。3.有些病人不想告知接觸者怕會造成歧視。4.接觸者的定義模糊也造成困擾，整體而言，必須多方努力來改善。

實驗室通報的成效也良好，可以多多推廣，鼓勵其他實驗室也加入通報行列，以利個案發現。社區篩檢的成績也良好，值得更加努力。

山地鄉個管師的新構想也不錯，但是如何和衛生所同仁合作須要進一步協調。

結核病的治療費時久遠，須 6 到 9 個月，本研究從今年 3 月才開始，因此無法評估此項。

於執行本計畫的過程中，有多數病人會主動告知山地鄉個管師身體不舒服的情況，因此個管師常能在第一時間掌握病患的情況，病人遵從性提高，有望提升整體的治療成功率。個案接受治療期間，個管師可將其所遭遇的困難以及在個案管理上所能提供的協助做個整理，如何能最有效的幫助個案是很重要的事。服藥順服性影響治療成功率甚鉅，個案的管理可能會影響病人的遵從性，完善山地鄉個案管理師之管理模式有其必要。定期舉行個案管理會議，可維持個案管理的品質，也可搜集及整理個案之接觸者資料，對執行接觸者的檢查有益。

二、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

中台灣曾經針對多重抗藥性結核病患者的接觸者進行潛伏性感染的研究結果只有 19% QFT 陽性和 46% TST 陽性[36]。但是本研究在東台灣的結果差異很大，55.1% QFT 陽性和 52.4% TST 陽性，表示東台灣地區的潛伏性感染非常嚴重。本研究也顯示，原住民接觸者的潛伏性感染遠高於非原住民接觸者，(QFT60.5% VS.30.6%)，(TST54.1%VS.44.4%)，這或許是因為山地鄉的結核病發生率遠高於非山地鄉。

本研究將持續追蹤 QFT 陽性或 TST 陽性的接觸者，以早期發現疾病早期可以治療。

三、再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

藉此研究，吾等想瞭解東台灣地區(花東)與台灣其他不同地區(如台北)，

是否在再治結核病人之菌株抗藥性之分布比例有所差異。吾等已於 2009 年完成東台灣多重抗藥性肺結核菌株基因型與病患群聚之研究，我們認為分析再治肺結核病患的相關研究將有助進一步釐清結核菌株抗藥性之產生機轉，這乃是防止多重抗藥性肺結核發生之重要工作。在社會上，一旦多重抗藥性肺結核散佈時，則整個社會將付出相當大的成本，因此，我們認為持續監測任何可能導致 MDR-TB 發生之可能原因如：單一抗藥菌之產生與再治肺結核病患發生結核抗藥性，對多重抗藥性肺結核之防治是需要的工作。經過本研究將可收集再治結核病人之臨床表現、治療反應，並對分析、追蹤與監控個案復發與再感染情況做出進一步的釐清。東台灣一向在台灣屬於肺結核（包括多重抗藥性肺結核）之高發病地區，防治肺結核工作相對需要重視，運用疾管局東區結核合約實驗室，可收集東台灣之再治肺結核病患的菌株以進行相關分析。再治肺結核病患，於我們的社會中，是散播耐藥性肺結核之重要來源。針對再治肺結核研究之成果，更足以展現一個國家之結核政策是否成功。

伍、結論與建議

一、加強山地鄉結核病防治

花蓮縣山地鄉依然是結核病的高發病地區，接觸者檢查可以早期發現許多病人，本研究的發現率高達 1.28%，和全國發生率 57/100000 相比，差異達 20 多倍，這証實本研究的品質良好，也証實接觸者檢查的重要性。其他輔助性的辦法例如社區篩檢，實驗室通報也增加許多早期發現的助益。至於治療方面則因為時間太短，暫時無法看出成績。

二、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

QFT 和 TST 是偵測潛伏性感染的最佳工具，本研究顯示東台灣地區的多重抗藥病患接觸者有很高的潛伏性感染，特別是山地鄉的原住民。已經被感染的接觸者必需小心地偵測是否發病，如果發病需儘早治療。

三、再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

世衛組織來自 10 個國家的監測數據發現 MDR-TB 的比例，於治療成功後復發或治療後失落再治的結核患者可達 32%。而於治療失敗後再治結核患者可達 49%。在我們的研究中 MDR-TB 的比率遠低於世界衛生組織的監測數據。

陸、本年度計畫重要研究成果及對國家政策之具體建議

1.本計畫之新發現或新發明

一、加強山地鄉結核病防治

花蓮縣山地鄉結核病的發生率依然很高（大於 400/100000），接觸者檢查可以發現不少病人（1.28%）。實驗室通報可以早期發現結核病病人。

二、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

東台灣地區多重抗藥結核病患的接觸者潛伏性感染高達五成以上。

三、再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

本計畫著重於東台灣肺結核再治之流行病學調查，此為本地區首次進行之相關研究。

2.本計畫對民眾具教育宣導之成果

一、加強山地鄉結核病防治

須鼓勵民眾瞭解結核病接觸者檢查的必要性，踴躍參加檢查。對結核病個案須強調治療的重要性。

二、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

東台灣山地鄉需加強接觸者檢查，讓民眾瞭解接觸者檢查的重要性，加強配合。

三、再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

藉此計劃結果，將有助於東台灣地區對防治多重抗藥性肺結核之相關知識提供更深的了解。

3.本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

一、加強山地鄉結核病防治

針對山地鄉須要努力做接觸者檢查，才能早期發現病人以減少結核病的傳播。實驗室通報是另一個可行的方法。

二、多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測

東台灣潛伏感染遠高於中台灣，這代表台灣各地區可能面對不同程度的威脅，有必要進一步瞭解一般民眾的潛伏感染狀態。QFT 不受卡介苗接種的影響，因此可以用此方法評估台灣各區潛伏感染的狀況。

三、再治結核病患之菌株基因型與抗藥表現型之相關性分析

建議可擴大實驗之樣本大小對防治多重抗藥性肺結核之相關知識提供更深的了解。

柒、參考文獻

1. 高瑋蘋. 台灣原住民結核病問題的形成：一個歷史的分析。國立成功大學公共衛生研究所碩士論文，2010年1月。
2. 索任. 原住民肺結核問題的探討. 原住民傳統醫療 vs 現代醫療，臺灣原住民族文教基金會，2001。
3. 李仁智. 山地鄉結核病傳染模式之調查研究。行政院衛生署疾病管制局九十三年度科技研究發展計畫，2004。
4. 李永盛. 高發病地區家族特性結核病傳染模式探討。行政院衛生署疾病管制局九十六年度科技研究發展計畫，2007。
5. 李如萍、邱艷芬. 肺結核病人的服藥遵從性。護理雜誌 1998;45:63-68。
6. World Health Organization. Drug and multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Geneva, Switzerland : WHO, 2009. <http://www.who.int/tb/challenges/medr/en/index.html> Accessed December 2009.
7. Mazurek G H, Villarino M E. Guidelines for using the QuantiFERON®-TB test for diagnosing latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. Centers for disease control and prevention. MMWR Recomm Rep 2003; 52(RR02).
8. Mazurek G H, Villarino M E. Guidelines for using the QuantiFERON®-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. Centers for disease control and prevention. MMWR Recomm Rep 2005; 54(RR15)
9. Johnson PD, Stuart RL, Grayson ML, et al. Tuberculin-purified protein derivative-, MPT-64-, and ESAT-6-stimulated gamma interferon responses in medical students before and after *Mycobacterium bovis* BCG vaccination and in patients with tuberculosis. Clin Diagn Lab Immunol 1999; 6:934-937
10. Vordermeier HM, Chambers MA, Cockle PJ, et al. Correlation of ESAT-6-specific gamma interferon production with pathology in cattle following *Mycobacterium bovis* BCG vaccination against experimental bovine tuberculosis. Infect Immun 2002; 70:3026-3032
11. Streeton JA, Desem N, Jones SL. Sensitivity and specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection. Int J Tuberc Lung Dis 1998; 2:443-450
12. Katial RK, Hershey J, Purohit-Seth T, et al. Cell-mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole-blood culture. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8:339-345
13. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet 2000;356:1099-104.
14. Mazurek G H, Villarino M E. Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection- United States, 2010. Centers for disease control and prevention. MMWR Recomm Rep 2010; 59(RR05).

15. World Health Organization: Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Report no. 2: Prevalence and trends. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance. Geneva: World Health Organization, 2000 (WHO/CDS/TB/2000.278).
16. Yoshiyama T, Yanai H, Rhiengtong D, et al. Development of acquired drug resistance in recurrent tuberculosis patients with various previous treatment outcomes. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8:31-38.
17. Chiang CY, Hsu CJ, Huang RM, et al. Anti-tuberculosis drug resistance among retreatment tuberculosis patients in a referral center in Taipei. *J Formos Med Assoc*. 2004;103:411-5.
18. American Thoracic Society. Controlling Tuberculosis in the United States. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172; 1169-1227.
19. Marks SM, Taylor Z, Qualls NL, Shrestha-Kuwahara RJ, Wilce MA, Nguyen CH. Outcomes of contact investigations of infectious tuberculosis patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:2033-2038.
20. Guidelines for the investigation of contacts to infectious tuberculosis patients. Atlanta, GA: National Tuberculosis Controllers Association, U.S. Department of Health and Human Services, CDC. *MMWR* December 16, 2005 / 54(RR15);1-37
21. Jereb J, Etkind SC, Joglar OT, Moore M, Taylor Z. Tuberculosis contact investigations: outcomes in selected areas of the United States, 1999. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7:S384-S390.
22. Rubilar M, Brochwicz-Lewinski MJ, Anderson M, Leitch AG. The outcome of contact procedures for tuberculosis in Edinburgh, Scotland 1982-1991. *Respir Med* 1995;89:113-120.
23. Jones TF, Schaffner W. Miniature chest radiograph screening for tuberculosis in jails: a cost-effectiveness analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:77-81.
24. Burman WJ, Cohn DL, Rietmeijer CA, Judson FN, Sbarbaro JA, Reves RR. Noncompliance with directly observed therapy for tuberculosis: epidemiology and effect on the outcome of treatment. *Chest* 1997;111:1168-1173
25. 鄭心宜、章淑娟、李仁智、賴佩秀、李永盛、江振源、林智斌. 東台灣肺結核病個案管理改善病人之治療結果. *醫療品質雜誌* 2010年5月號 第4卷第3期。
26. Blumberg HM, Watkins DL, Berschling JD, et al. Preventing the nosocomial transmission of tuberculosis. *Ann Intern Med* 1995;122:658-663..
27. Geng E, Kreiswirth B, Driver C, et al. Changes in the transmission of tuberculosis in New York City from 1990 to 1999. *N Engl J Med* 2002;346:1453-1458.
28. MacIntyre CR, Kendig N, Kummer L, Birago S, Graham NM. Impact of tuberculosis control measures and crowding on the incidence of tuberculous infection in Maryland prisons. *Clin Infect Dis* 1997;24:1060-1067.
29. Jen-Jyh Lee, Rong-Lun Wu, Yeong-Sheng Lee, Yi-Chun Wu, Chen-Yuan Chiang. Treatment outcome of Pulmonary Tuberculosis in Eastern Taiwan-an Experience at a Medical Center. *J Formos Med Assoc* 2007; 106: 25-30.
30. Ming-Chih Yu, Kuan-Jen Bai, Jer-Hwa Chang, and Chun-Nin Lee. Tuberculosis Incidence and Mortality in Aboriginal Areas of Taiwan, 1997-2001. *J Formos Med Assoc* 2004; 103: 817-823.
31. Cellestis. QuantiFeron-TB Gold In Tube Method and Technical Information.

- Melbourne, Australia: Cellestis; 2009.
32. van Embden J D, Cave M D, Crawford J T, et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol* 1993;31:406-409.
 33. Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, et al. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol* 1997;35:907-914.
 34. Oelemann M C, Diel R, Vatin V, et al. Assessment of an optimized mycobacterial interspersed repetitive- unit-variable-number tandem-repeat typing system combined with spoligotyping for population-based molecular epidemiology studies of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2007;45:691-697.
 35. Woods G L, Brown-Elliott B A, Desmond E P, et al. Susceptibility testing of mycobacteria, nocardia, and other aerobic actinomycetes; approved standards 2003.
 36. Y-W. Huang, G-H. Shen, J-J Lee, W-T, Yang. Latent tuberculosis infection among close contacts of multidrug-resistant tuberculosis patients in central Taiwan. *INT J TUBERC LUNG DIS* 14(11):1430-1435.

捌、圖表

表一

結核病流行病學-發生率，2002~2009

	全國	花蓮縣	秀林鄉	萬榮鄉	卓溪鄉
Year	Rate	Rate	Rate	Rate	Rate
2002	74.6	142.4	529.9	393.6	453.9
2003	66.7	145.0	467.4	266.5	260.0
2004	74.1	160.8	647.3	434.8	264.4
2005	72.5	137.8	612.0	233.7	326.4
2006	67.4	120.4	511.3	512.5	328.7
2007	63.2	114.1	400.6	306.5	257.0
2008	62.0	105.2	415.4	183.5	245.7
2009	57.8	109.0	533.1	256.6	217.5

表二

結核病流行病學-死亡率，2002~2009

	全國	花蓮縣	秀林鄉	萬榮鄉	卓溪鄉
Year	Rate	Rate	Rate	Rate	Rate
2002	5.7	12.5	25.8	26.2	28.4
2003	5.8	10.8	77.9	26.7	28.9
2004	4.2	11.1	58.8	40.8	44.1
2005	4.3	9.5	52.6	0.0	14.8
2006	3.7	9.3	33.2	0.0	0.0
2007	3.4	7.7	20.0	13.9	30.2
2008	3.3	7.0	20.1	28.2	15.4
2009	3.2	8.2	40.0	42.8	0.0

表三 花蓮縣山地鄉結核病接觸者 X 光結果統計表

	A ¹	B	C	D	接觸者數	確診個案 ² 數	平均檢查數
秀林鄉	323	4	0	30	356	50	7.14
萬榮鄉	115	3	0	2	120	12	10
卓溪鄉	134	3	1	11	149	15	9.93
總計	572	10	1	43	626	77	8.13

附註：

1. A, B, C, D 等字母代表接觸者 X 光結果；分別為正常，異常無空洞，異常有空洞及異常無關結核病。
2. 確診個案通報日期查詢自 100.1.1 至 100.9.30 止。

表四 實驗室通報的抹片及培養結果

地區	M+C+	M+C-	M-C+	M 未做 C+	M+C 未做	合計
花蓮縣	27	29	22	28	1	107
秀林鄉	15	5	8	1	0	29
萬榮鄉	3	1	4	3	0	11
卓溪鄉	8	3	3	1	0	15

表五 花蓮縣秀林鄉 100 年度 X 光巡迴檢查統計表

場次	村別	日期	檢查人數	疑似	確診
1	民有	2/23	71	7	待處理
2	崇德	3/19	141	6	2
3	銅門	4/23	102	3	待處理
4	佳民	5/07	113	2	待處理
5	富士	5/21	169	5	待處理
6	和平	6/11	119	6	1
7	秀林	6/25	184	5	1
8	和平	7/09	68	3	待處理
9	水源	7/23	177	9	待處理
10	文蘭	8/03	194	5	2
11	銅門	8/05	151	8	2
12	秀林	8/19	82	5	待處理
13	景美	8/20	222	13	3
14	文蘭	8/23	105	8	1
15	秀林	8/27	61	2	1
16	景美	8/31	170	8	待處理
17	景美	9/03	143	4	待處理

18	秀林國中	9/07	347	2	1
19	景美	9/10	174	7	待處理
20	崇德	9/17	120	4	1
21	水源	9/24	145	6	1
22	和平	10/01	136	8	待處理
23	文蘭	10/08	132	5	待處理
24	佳民國小	10/15	183	待處理	待處理
25	富士村壘球場	10/23	175	待處理	待處理
		合計	3684	131	16

表六 花蓮縣萬榮鄉 100 年度 X 光巡迴檢查統計表

場次	村 別	日期	檢查人數	疑似	確診
1	紅葉	3/10	106	1	0
2	馬遠	3/17	116	2	0
3	明利	4/07	79	0	0
4	萬榮	4/14	88	3	0
5	見晴	5/05	85	4	0
6	西林	5/12	183	8	1
7	紅葉	6/19	56	1	1
8	西林	7/08	53	1	0
9	馬遠	7/31	53	1	0
10	西林	8/10	173	6	待處理
11	見晴	8/14	61	0	待處理
12	明利	8/18	48	0	待處理
13	萬榮國中	9/13	59	0	待處理
14	萬榮	9/13	117	3	待處理
15	萬榮	9/18	80	5	待處理
16	紅葉	9/19	123	4	待處理
17	馬遠	9/26	109	1	待處理

18	馬遠	9/27	58	4	待處理
19	西林	9/29	85	5	待處理
合計			1732	49	2

表七 花蓮縣卓溪鄉 100 年度 X 光巡迴檢查統計表

場次	村 別	日期	檢 查 人 數	疑 似	確 診
1	古風	4/01	100	2	0
2	立山	4/08	77	4	0
3	卓溪	5/06	101	2	0
4	太平	5/13	102	1	0
5	崙山	5/20	103	5	0
6	卓清	5/27	102	2	1
7	卓清	7/02	96	3	0
8	卓溪	7/21	73	1	1
9	立山	8/12	110	4	1
10	崙山	8/13	65	1	待處理
11	古風	8/26	162	3	待處理
12	太平	9/16	73	待處理	待處理
13	富北國中	9/16	28	0	0
14	玉里國中	9/16	71	1	待處理
15	玉里高中	9/16	77	待處理	待處理
16	三民國中	9/16	74	2	待處理
17	富北國中	10/20	24	待處理	待處理

18	卓清	10/20	84	待處理	待處理
19	立山	10/21	99	待處理	待處理
20	格全工廠	10/21	81	待處理	待處理
合計			1702	31	3

表八

Relationship between demographic data of the subjects and results of the QFT test and TST

N=592	n(%)	QFT test		TST	
		negative	positive (%)	negative	positive (%)
	592	266	326(55.1)	282	310(52.4)
Sex					
male	270(45.6)	121	149(55.2)	127	143(53.0)
female	322(54.4)	145	177(55.0)	155	167(51.9)
Age					
≤30	176(29.7)	107	69(39.2)	101	75(42.6)
31-50	220(37.2)	100	120(54.6)	84	136(61.8)
>50	196(33.1)	59	137(69.9)	97	99(50.5)
Ethnicity					
Aboriginal	484(81.8)	191	293(60.5)	222	262(54.1)
Non-aboriginal	108(18.2)	75	33(30.6)	60	48(44.4)
Symptom					
none	519(87.7)	239	280(54.0)	251	268(51.6)
weight lose	2(0.3)	1	1(50.0)	1	1(50.0)
cough>2 weeks	71(12.0)	26	45(63.4)	30	41(57.8)

Negative<10mm

Postive ≥ 10mm

表九

Relationship between demographic data of the subjects and results of the QFT test and TST

N=592	n(%)	QFT test		TST	
		negative	positive (%)	negative	positive (%)
Kinship					
spouse	33(5.6)	12	21(63.6)	9	24(72.7)
parents	27(4.6)	10	17(63.0)	17	10(37.0)
grandparents	3(0.5)	1	2(66.7)	1	2(66.7)
siblings	33(5.6)	15	18(54.6)	13	20(60.6)
children	62(10.5)	31	31(50.0)	25	37(59.7)
relatives	180(30.4)	91	89(49.4)	88	92(51.1)
neighbor	141(23.8)	46	95(67.4)	75	66(46.8)
others	113(19.1)	60	53(46.9)	54	59(52.2)

Negative<10mm

Postive ≥ 10mm

表十

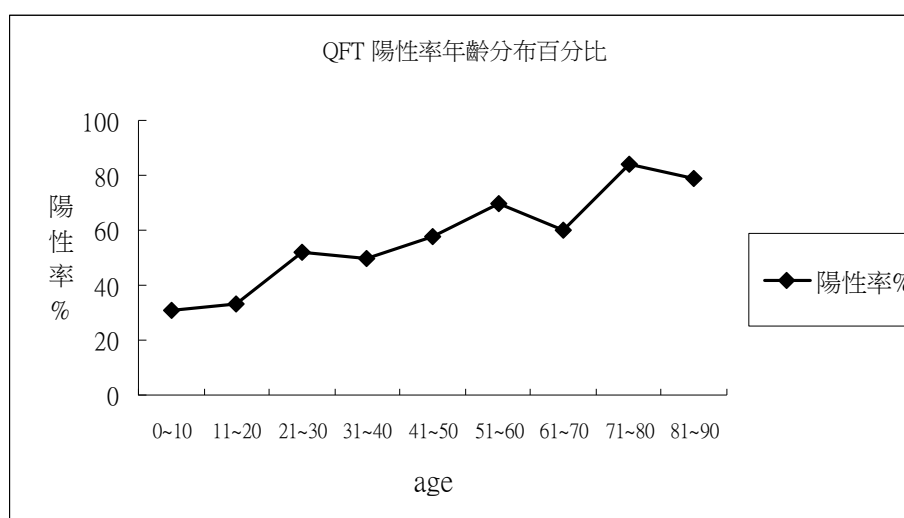
Relationship between demographic data of the subjects and results of the QFT test and TST

N=592	n(%)	QFT test		TST	
		negative	positive (%)	negative	positive (%)
Country					
台北區	7(1.2)	4	3(42.9)	5	2(28.6)
*秀林鄉	169(28.6)	54	115(68.1)	65	104(61.6)
新城鄉	11(1.9)	7	4(36.4)	6	5(45.5)
花蓮市	42(7.1)	30	12(28.6)	29	13(31.0)
吉安鄉	30(5.1)	21	9(30.0)	17	13(43.3)
*萬榮鄉	111(18.8)	38	73(65.8)	37	74(66.7)
壽豐鄉	8(1.4)	5	3(37.5)	5	3(37.5)
光復鄉	7(1.2)	4	3(42.9)	4	3(42.9)
瑞穗鄉	5(0.9)	4	1(20.0)	2	3(60.0)
豐濱鄉	24(4.1)	6	18(75.0)	13	11(45.8)
*卓溪鄉	38(6.4)	16	22(57.9)	23	15(39.5)
玉里鎮	2(0.3)	0	2(100.0)	1	1(50.0)
台東市	40(6.8)	23	17(42.5)	16	24(60.0)
太麻里	5(0.9)	4	1(20.0)	3	2(40.0)
卑南鄉	28(4.7)	20	8(28.6)	10	18(64.3)
*延平鄉	26(4.4)	12	14(53.9)	22	4(15.4)
東河鄉	18(3.0)	7	11(61.1)	14	4(22.2)
鹿野鄉	11(1.9)	4	7(63.6)	5	6(54.6)
關山鎮	10(1.7)	7	3(30.0)	5	5(50.0)

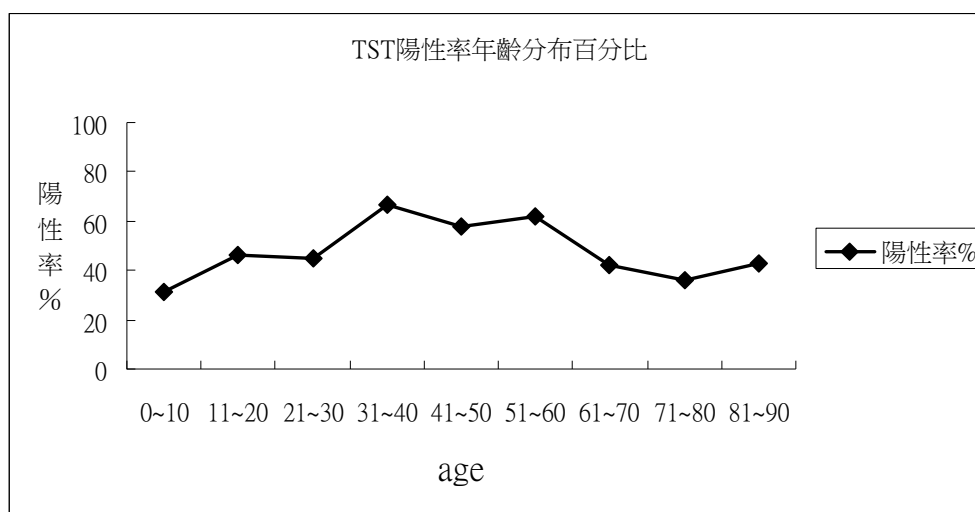
Negative < 10mm

Positive ≥ 10mm

*山地鄉



表十二



表十三

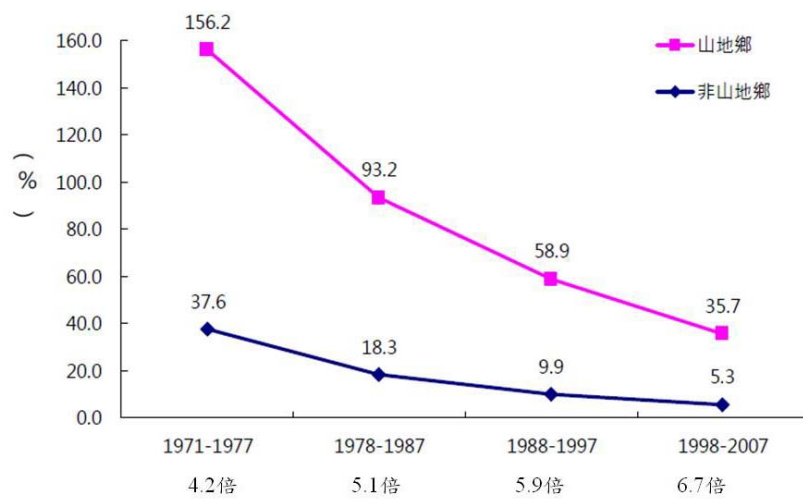
variable	Relapse	treatment	treatment	OR (95% CI)	P value
	No(%)	after failure	after default		
	n=36	n=50	n=6		
Age					0.62
<24	1(2.8)	4(8.0)	0(0)		
25-44	11(30.6)	10(20.0)	1(16.7)		
45-64	12(33.3)	24(48.0)	5(83.3)		
>64	12(33.3)	12(24.0)	0(0)		
Gender					0.4
male	29(80.6)	37(74.0)	6(100)		
female	7(19.4)	14(28.0)	0(0)		
Drug resistance pattern					
Any	9(25.0)	17(34.0)	1(16.7)		
Isoniazid					
single	1(2.8)	1(2.0)	0(0)		
any	7(19.4)	17(34.0)	1(16.7)	0.47 (0.17-1.3)	0.15
Rifampin					
single	1(2.8)	0(0)	0(0)		
any	8(22.2)	14(28.0)	1(16.7)	0.73 (0.27-2.0)	0.62
Ethambutal					
single	0(0)	0(0)	0(0)		
any	4(11.1)	5(10.0)	0(0)	1.10 (0.28-4.50)	1
Streptomycin					
single	0(0)	0(0)	0(0)		
any	3(8.3)	9(18.0)	1(16.7)	0.41 (0.1-1.7)	0.34
mutidrug resistant tuberculosis					
	6(16.7)	14(28.0)	1(16.7)	0.51 (0.18-1.5)	0.3

表十四

年齡	種族	性別	首度 INH	RA	EMB	SM	銷案原因	再度 INH	RA	EMB	SM	基因鑑定結果
43	0	1	S	S	S	S	失敗再治	R	R	R	S	再度感染
77	0	0	S	S	S	S	失敗再治	R	R	S	R	再度感染
15	1	0	S	S	S	S	失敗再治	R	R	R	R	再度感染
55	1	0	S	S	S	S	失敗再治	R	R	S	R	再度感染
56	0	0	S	S	S	S	失敗再治	R	R	S	S	再度感染
21	1	1	S	S	S	S	失敗再治	R	R	S	R	再度感染
68	1	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
63	0	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
48	1	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
46	1	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
32	1	1	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
60	0	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
29	1	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
52	1	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
54	1	0	S	S	S	S	失敗再治	R	S	S	S	再度感染
50		0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
70	0	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
80	1	1	S	S	S	S	失敗再治	R	R	S	S	再度感染
53	0	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	再度感染
48		1	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	未完成
17	1	1	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	未完成
44	1	0	S	S	S	S	失敗再治	R	R	S	R	復發
28	1	1	S	S	S	S	失敗再治	R	S	R	S	復發
93	0	1	S	S	S	S	失敗再治	R	R	S	S	復發
46	1	0	S	S	S	S	失敗再治	R	R	R	R	復發
27	1	1	S	S	S	S	失敗再治	R	R	S	R	復發
47	1	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	復發
58	1	1	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	復發
48	1	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	復發
23	1	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	復發
43	1	0	S	S	S	S	失敗再治	S	S	S	S	復發
57	0	0	S	S	S	S	失落再治	S	S	S	S	再度感染
33	1	0	S	S	S	S	失落再治	S	S	S	S	復發
52	0	0	S	S	S	S	失落再治	S	S	S	S	復發
82	1	1	S	S	S	S	成功復發	R	R	S	S	再度感染

57	1	0	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	再度感染
36	1	0	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	再度感染
46	1	1	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	未完成
44	1	0	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	未完成
36	1	1	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	未完成
91	0	0	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	未完成
77	0	1	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	未完成
48	1	0	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	未完成
41	1	0	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	未完成
44	1	0	S	S	S	S	成功復發	R	S	S	S	復發
70	0	0	S	S	S	S	成功復發	R	R	R	R	復發
61	1	0	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	復發
66	1	0	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	復發
69	0	0	S	S	S	S	成功復發	S	S	S	S	復發

圖一 山地鄉與非山地鄉年齡標準化結核病死亡率，1971-2007



玖、附錄

附錄一

花蓮縣結核病訓練課程

日期：100年05月15日(星期日)08:30~12:00

時間	演講內容	主講人
08:30~08:50	報到	
08:50~09:00	致詞	林志雄
09:00~09:30	東部 MDR-TB 的成果	陳韻如
09:30~10:00	結核病衛教及接觸者檢查	鄭淑惠
10:00~10:20	休息	
10:20~10:50	十年減半計劃前五年的成果	李仁智
10:50~11:20	東台灣的結核病防治計畫- 加強山地鄉結核病防治(萬榮鄉)	黃坤耀
11:20~11:50	總結	李仁智

花蓮縣結核病訓練課程

日期：100年6月18日(星期六)08:30~12:00

時間	演講內容	主講人
08:30~09:00	報到	
09:00~09:10	致詞	田惠文
09:10~09:40	為什麼要做都治計畫?	李仁智
09:40~10:10	東部 MDR-TB 的成果	陳韻如
10:10~10:30	休息	
10:30~11:00	接觸者檢查	陳姿伶
11:00~11:30	東台灣的結核病防治計畫- 加強山地鄉結核病防治(秀林鄉)	呂亞燕
11:30~11:50	總結	李仁智

花蓮縣結核病訓練課程

日期：100年7月16日(星期六)08:30~12:30

時間	演講內容	主講人
08:30~08:50	報到	
08:50~09:00	主任致詞	張聰仁
09:00~09:30	結核病的小故事	李仁智
09:30~10:00	東部 MDR-TB 的成果	陳韻如
10:00~10:20	休息	
10:20~10:50	接觸者檢查	黃寶英
10:50~11:20	東台灣的結核病防治計畫- 加強山地鄉結核病防治(卓溪鄉)	黃薇霓
11:20~11:50	家庭暴力防治-要抱,不要暴	陳怡臻
11:50~12:00	總結	李仁智

「多重抗藥病患接觸者潛伏性結核分枝桿菌感染之監測」

臨床試驗問卷

姓名：	身分證字號：	
身高：_____公分 體重：_____公斤	性別： <input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女 年齡：_____	
工作場所/職稱：	任職年資：	
住處：	居住期間：	
問卷內容		回答區
一、請問你的指標性個案(MDR-TB)是誰?	_____	
二、請問你與指標性個案(MDR-TB)是否共同居住?	_____	
三、請問您與指標性個案 (MDR-TB) 一天相處時間是否 > 8 小時?	_____	
四、請問您與指標性個案(MDR-TB)相處累積時間為? 1.<40 小時 2.40-80 小時 3.>80 小時	_____	
五、請問您與指標性個案 (MDR-TB) 於治療前 (開始服藥) 親密接觸的時間為何? 1.無 2.住在同一間房子 3.使用同一廚房至少三個月以上 4.相處同一空間超過 8 小時 5.其他時間, 請說明_____.	_____	
六、請問您與指標性個案(MDR-TB)的關係是? (可複選) 1.配偶 2.父母 3.祖父母 4.兄弟姐妹 5.子女 6.親戚 7.鄰居 8.其他, 請說明_____.	_____	
七、請問您的指標性個案 (MDR-TB) 服用結核藥物已多久? 1.無 2.1~3 個月 3.4~6 個月 4.7~9 個月 5.10~12 個月 6.12 個月以上 7.完治	_____	
八、近期內是否接受過接觸者胸部 X 光檢查? 1.無 2.不清楚 3.有, 檢查醫院: _____ 日期: _____	_____	
九、近期內是否接受過接觸者皮膚結核菌素試驗? 1.無 2.不清楚 3.有, 日期: _____ 大小: _____mm	_____	
十、請問您是否有得過結核病? 1.是 2.否 若是請問何時得病? 日期: _____	_____	

十一、 請問您是否有其他慢性疾病？（可複選） 1.無 2.糖尿病 3.慢性肝病 4.慢性腎病變 5.人體免疫疾病 6.服用類固醇 7.惡性腫瘤 8.其他請說明：_____	_____
十二、 請問您是否出現下列症狀？（可複選） 1.無 2.咳嗽超過兩個星期 3.咳血 4.午後發燒 5.夜間盜汗 6.體重減輕	_____
十三、 臨床試驗結果如需進一步追蹤，請問您是否有意願？ 1.無 2.會考慮 3.願意配合	_____
判讀結果(由計畫人員填寫)	
一、卡介苗疤痕： 1. 無疤 2. 有疤_____個疤數	
二、皮膚結核菌素試驗: mm 接種日期 _____年 _____月 _____日 判讀日期 _____年 _____月 _____日 反應大小結果：_____mm (接種人員：_____)	
三、 QuantiFERON-TB Gold in tube (QFT-IT) 結果: <input type="checkbox"/> 陽性 <input type="checkbox"/> 陰性 <input type="checkbox"/> 未能判定 本次抽血日期_____年 _____月 _____日 數值：_____ (u/ml)	

附錄五

版本日期：(東台灣的結核病防治計畫，Version 2 05/09/2011)

佛教慈濟綜合醫院

研究用人體檢體採集受試者同意書

民國 99 年 4 月 26 日人體試驗計畫審議委員會會議修訂版

試驗計畫名稱： 東台灣的結核病防治計畫		
執行單位： 胸腔內科		
委託單位或經費來源： 財團法人生技醫療科技政策研究中心		
試驗主持人： 李仁智	職稱： 主任	電話： 03-8561825 轉 2118
※二十四小時緊急聯絡人： 李仁智 電話： 0919963848		
提供者姓名：	性別：	出生年月日：
病歷號碼：		
通訊地址：		
聯絡電話：		
一、試驗簡介與試驗目的		
為增進醫學新知及提高醫療技術，進而服務社會，承蒙您自願接受（法定代理人同意）為本試驗計畫之主要受試對象，為能使您完全瞭解本計畫施行人體試驗部份主要內容及方法，敬請詳閱以下各項資料。倘若您對本試驗進行的方法及步驟仍有疑問，本計畫有關人員願意提供進一步解釋，以期您能充分瞭解。		
試驗目的：		

告知您的試驗主持醫師。

2. 結核菌素 PPD 皮膚試驗：

可能的副作用及危險在於兩階段式結核菌素皮膚試驗有 2.3%可能引起水泡及皮膚反應，但只要保持傷口乾淨，或使用藥膏約一星期以內就可以復原。

只有非常少數個案報告對於結核菌素有藥物過敏性休克情形。受試者是在花蓮慈濟醫院注射室或有醫護人員在旁的情形下接受注射，一旦有過敏性休克的情形我們會立即處理，皮膚的水泡與結節，我們將在門診時給予皮膚抹用藥膏，一旦有危急性命的情形發生時，我們將尋求衛生署藥害救濟。

四、研究檢體所得資訊對檢體提供者及其親屬或族群可能造成的影響：
無

五、試驗預期效益：

若您同意參與這項調查，對您可能沒有立即直接的利益。但經由此項調查所收集到的資料，未來將發表於相關醫學會議及科學期刊，對於醫師未來在評估疾病的治療效果將有所助益。

六、試驗進行中受試者之禁忌、限制與應配合之事項：

無

七、檢體使用保管者之義務：

- (一) 檢驗結果如有影響健康之發現，會通知您。
- (二) 會負擔維護個人隱私權之責，並不得有買賣行為。
- (三) 對於因檢體採集、保存、使用所知悉之檢體提供者隱私或個人資料，不得無故洩漏。

八、隱私保護與機密性：

- (一) 慈濟醫院將依法把任何可辨識您的身分之記錄與您的個人隱私資料視為機密來處理，不會公開。請您亦瞭解若簽署同意書即同意您的原始醫療紀錄可直接受監測者、稽核者、研究倫理委員會及主管機關檢閱，以確保臨床試驗過程與數據符合相關法律及法規要求；上述人員並承諾絕不違反您的身分之機密性。
- (二) 研究所得資料可能發表於學術性雜誌，但不會公佈受試者的姓名，同時受試者之隱私將給予絕對之保密。

九、保障檢體提供者權益的機制：

- (一) 檢體提供者可自由決定是否參加本研究計畫，執行過程中也可隨時撤銷同意，退出研究計畫，不需任何理由。以上情況皆不會引起任何不愉快或影響其日後醫師對您的醫療照顧。
- (二) 檢體提供者若對參與研究計畫之個人權益有疑慮時，可與本院之研究倫理委員會聯絡請求諮詢，電話：03-8561825 分機 2124、傳真：03-8561825 分機 3272。

十、個人資料、檢體與檢體衍生物之保存與再利用：

- (一) 為了保護您的個人隱私，我們將以一個試驗編號來代替您的名字及相關個人資料，以確認您的檢體及與相關資料受到完整保密。檢體及檢體相關資訊僅供主持人與本研究團隊成員使用，在收集後若您有任何想要銷毀檢體的需求，請立即與我們聯絡（聯絡人：李仁智 電話：03-8561825 轉 2118；聯絡單位：慈濟醫院胸腔內科電話：03-8561825 轉 2118 地址：花蓮市中央

路三段 707 號)，我們即會將您的檢體銷毀。

(二) 檢體是否有提供、讓與或授權國內或國外之他人使用檢體之情形

是，可能 提供 讓與 授權

國外，機構名稱：_____

國內，機構名稱：_____

否

(三) 若試驗結束後有剩餘之檢體，在您的同意下，慈濟醫院將保存此檢體，作為未來結核病防治。所有新的研究計畫都要再經由慈濟醫院研究倫理委員會審議通過，若委員會認為必要，將重新得到您的同意。剩餘檢體將儲存於慈濟醫院結核病實驗室，檢體保存年限為 10 年。

我同意 簽名：_____ 日期：_____

我不同意(剩餘檢體由慈濟醫院統一銷毀) 簽名：_____ 日期：_____

十一、試驗成果及權益歸屬

如本試驗研究成果產生學術文獻發表、智慧財產及其他效益時，受試者同意無償捐贈給本院從事疾病預防、診斷及治療等公益用途。

十二、簽名

(四) 試驗主持人或研究人員已詳細解釋有關本研究計畫中上述研究方法的性質與目的，及可能產生的危險與利益。

試驗主持人/取得同意書人正楷簽名：_____

日期：_____ 年 _____ 月 _____ 日

(五) 本人已經完全瞭解上列資料，同意提供研究所需之檢體或各項檢查剩餘檢體於慈濟醫院進行研究，並同意計畫主持人可調閱及謄錄研究必要之病歷資料，以進行研究。

本同意書一式 2 份，主持人或其團隊成員已將同意書副本交給您，並已完整說明本研究之性質與目的，而且已回答您有關本研究的相關問題。

受試者簽名：_____ 日期：_____ 年____月____

日

法定代理人簽名：_____ 日期：_____ 年____月____日

* 受試者為無行為能力(未滿七歲之未成年人者或受監護宣告之人)，由法定代理人為之；受監護宣告之人，由監護人擔任其法定代理人。

* 受試者為限制行為人者(滿七歲以上之未成年人或受輔助宣告之人)，應得本人及其法定代理人之同意。

有同意權人簽名：_____ 日期：_____ 年____月____

日

與受試者之關係：_____

* 受試者雖非無行為能力或限制行為能力者，但因意識混亂或有精神與智能障礙，而無法進行有效溝通和判斷時，由有同意權之人為之。
前項有同意權人為配偶及同居之親屬。

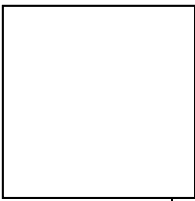
(六) 受試者無法閱讀上述說明，經由口頭說明，須有另一見證人在場。試驗相關人員不得為見證人。

見證人姓名：

身份證字號：

聯絡電話：

通訊地址：



簽名： _____ 日期： _____ 年 _____ 月 _____

日