

重訪結核菌群

衛福部疾病管制署 結核病研究中心 周如文

今年(2020)年3月24日的世界結核病日比起往年明顯的低調許多，雖然頗符合超級疾病-「結核病(tuberculosis, TB)」的調性，卻又不免令人覺得惋惜，難得一年一次可當世界公共衛生舞台主角的機會，竟然就揖讓給新興的嚴重特殊傳染性肺炎(COVID-19)。此兩種傳染病同樣是人畜共通傳染病，也同樣會造成肺病嚴重的病症，同樣是健康及公共衛生嚴峻的威脅，期望臺灣及全球能快速回歸安然靜好的例行。

姑且嘗試再回望結核病的致病原「結核菌群(*Mycobacterium tuberculosis* complex, MTBC)」，以瞭解古老病原的嶄新發現。若是依照傳統生物界、門、綱、目、科、屬、種的分類，結核菌群是分枝桿菌屬的細菌，分類上是放線菌門(Actinobacteria)、放線菌目(Actinomycetales)、分枝桿菌(Mycobacteriaceae)科的分枝桿菌(*Mycobacterium*)屬，廣泛的分佈於自然界中。分枝桿菌屬已知共約有200種以上，可於<http://www.bacterio.net/mycobacterium.html> 網站查詢，其中最重要的致病菌為具人傳人特質的結核菌

群、麻瘋桿菌(*Mycobacterium leprae*)，其他大多數為不會造成人傳人感染的非結核分枝桿菌(nontuberculous mycobacteria, NTM)。事實上，分枝桿菌屬於革蘭氏陽性的放線菌目，此放線菌目其實包括許多一般常態存在於土壤及水生的各種細菌。但是究竟結核菌是如何由土壤中細菌演化成為人類歷史上重大致病原的故事，一直是令人好奇。有一說法臆測是因為人類發明及使用火來改善生活，造成肺部容易受傷而導致對土壤中的細菌感受性提高，至於土壤細菌如何演化成具高度致病性及傳播力的結核菌群，持續是有趣的研究主題。

結核病是古老的疾病，在有歷史記載前就已經盛行，在臺灣也是重要法定傳染病之一。近年來，由於防治策略運用得宜，確診的新結核病個案數目大幅下降至約8,650位及發生率降低至約每10萬人口37人。致病菌是結核菌群，最早是在1882年3月24日，由德國羅伯特柯霍(Dr. Robert Koch)醫師發表以特殊染色在結核病肺中以顯微鏡觀測到細菌，並成功的在體外(in vitro)培養後，再以動物實驗證實為結核的病原菌，命名為結核菌(*Bacterium tuberculosis*)，

直至1896年才由 Lehmann 及 Neuman 收在 Genus *Mycobacterium*，此 Genus 只有 *Mycobacterium tuberculosis* 和 *Mycobacterium leprae* 兩種菌。近年來隨著基因體科技的發展，科學研究人員藉由全基因體 (whole genome) 分析、比較基因體學及系統生物學 (system biology) 技能，對結核菌群的起源、動態演化及分子致病性 (molecular pathogenicity)，能有更深層次的解析，也因此引導結核病的診斷與治療進入新的紀元。

其實，結核菌群是一株系細菌群 (clonal bacterial group)，核苷酸 (nucleotide) 組成相近似度高達 99.9%，不易使用傳統檢驗方法 (抗酸菌抹片顯微鏡檢查及培養鑑定) 鑑別細菌群中的每一成員。結核菌群成員各別具有不同的毒力 (virulence) 及宿主取向性 (tropism)，因而造成結核病個案接觸者檢查及感染源頭調查的難度。結核菌群大致上可以劃分為**感染人類及動物的菌種 (species) / 生態型 (ecotypes)**：

❶ 感染人類的演化分支 (clade)：

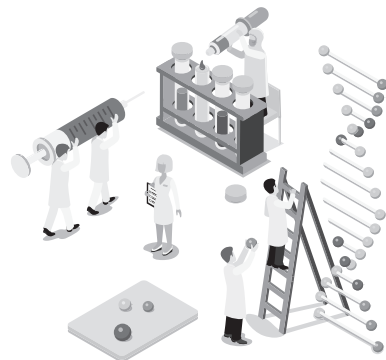
結核菌 (*M. tuberculosis*) 及非洲型結核菌 (*M. africanum*)

❷ 感染動物的演化分支：

M. bovis 牛型結核菌包含 BCG
M. bovis、*M. orygis*、*M. caprae*、
M. pinnipedii、*M. mungi*、*M. microtii*、

M. suricattae、*Dassie bacilli* 及 *M. canettii*

M. canettii 其實是屬於「smooth tubercle bacilli」，由調查發現 *M. canettii* 侷限於非洲之角 (Horn of Africa) 的五個位於東非的國家：衣索比亞、蘇丹、索馬利亞、肯亞及吉布地 (主要分布國家)。與其他結核菌群的核苷酸組成相似度為 97.3%，一般認為 *M. canettii* 是結核菌群的祖先，是兼性致病原 (facultative pathogen) 存於環境中，卻成功演化成適應人類及動物的專性 (obligate) 致病菌，並且是先藉由毒力顛覆宿主的免疫防護機制，再透過密切接觸或其他關聯性的傳播，進而導致人類及動物適應 (adapted) 關鍵性菌株的演化，並成功造成全球性的流行。所以，依據現有證據顯示，結核菌群應該是起源於非洲之角。因為，所有結核菌群的成員皆存在於非洲大陸，而且非洲的結核菌群具有最高度的基因型多樣性，並會依與非洲的地理距離遞減多樣性。此外，人類結核菌並非由牛型結核菌演化而來。



主要適應人類 (human-adapted) 的病原為：

(一) 結核菌，自從1998年第一株結核菌被以全基因體序列技術解析細部基因體後，由累計的數千筆全基因體資料分析得知，結核菌群包含7個系統發生世系 (phylogenetic lineages)，各個世系 (lineage, L) 與地理分布、毒性/致病力、傳播力及抗藥性等皆息息相關。可分成 L1-4 及 L7 世系：L1 世系即是 Indo-Oceanic 或 East African-Indian (EAI) 基因型，盛行於印度洋區；L2 是東亞 (East-Asian) 世系，包含北京型家族 (Beijing family) 菌株 (係臺灣主要盛行基因型)，高度盛行於全球；L3 是中亞株 (Central Asian Strains, CAS)，屬於中度流行世系，盛行於東非、中亞及南亞；L4 是歐美 (Euro-American) 世系，包含 Haarlem 基因型菌株 (為臺灣次要盛行基因型)，L4 包含 10 種次世系 (sub-lineage)，有些次世系高度盛行於全球，但是有 4 種次世系具有地緣性，例如：L4.6.1 僅於烏干達 (Uganda) 流行，而 L4.6.2 僅於喀麥隆 (Cameroon)；L7 則僅盛行於衣索比亞 (Ethiopia)，具強烈地緣性。其中，L2, L3 及 L4 是現代 (modern) 世系，與非洲型結核菌、*M. bovis* 及其他動物來源的古老 (ancient) 世系菌株的最不相同處，在於特定的結核菌基因體區域發生 TbD1 缺失



(deletion)。

(二) 非洲型結核菌，可分成 L5 的西非 1 (West Africa 1)，侷限於西非的迦納 (Ghana)、貝南 (Benin) 及奈及利亞 (Nigeria)。至於，L6 的西非 2 (West Africa 2) 世系，則與動物結核菌世系相關，可能起源於未知的動物儲存 (reservoir) 宿主。L6 則與 HIV 共同感染相關，因而可能是伺機性 (opportunistic) 人類致病原。

主要適應動物 (animal-adapted) 的致病原分成二大群：

▪ 第一群包含：

- ❶ Dassie bacilli 於 1960 年首次由南非的蹄兔中分離，尚無感染人類的報導
- ❷ *M. mungi* 於 2010 年在非洲波札那 (Botswana) 分離，會使帶狀貓鼬 (banded mongooses) 生病，感染後在 2-3 個月內就會快速致病，與其他成員結核菌群的慢性 (chronic) 致病特質不同

③ *M. suricattae* 是結核菌群新成員，致病力強，在非洲波札那喀拉哈里 (Kalahari) 沙漠中的狐獴 (meercats) 分離出。

以上3種動物致病原高度相似，但是仍可透過基因體上的專一性識別，進行判別。例如：Dassie bacilli 缺少 RD1，而 *M. mungii* 有完整的 RD1，而 *M. suricattae* 則獨具有16S rDNA 的 T214G 標幟。

▪ 第二群包含：

① *M. orygis* 首次在1976年，由西非劍羚 (oryxes) 中分離，後續分離自水羚 (waterbuck)、鹿、野生水牛及犀牛等分離，但近年來也有人類感染但傳染途徑未明。*M. orygis* 具有 RD1 但因為獨具 RD12 缺失的特性，可與其結核菌群的成員區分。

② *M. caprae* 首次在1999年由羊中分離，2003年納入結核菌群。宿主不限於羊科動物，鹿、牛、老虎、駱駝等皆有分離出 *M. caprae*。基因型可分為2種間隔寡核酸基因型 (spoligotype)，一種出現在伊比利亞半島 (Iberian peninsula)，另一種在中歐與西歐發現。與牛型結核菌不同處是對於治療結核病的 pyrazinamide 藥物不具有抗藥性，以及在 fluoroquinolone 類藥物抗藥相關的 *gyrB* 基因上發生特定的 T1311G 點突變，可與其結核菌群的成員區分。

③ *M. pinnipedii* 則在2003年時被獨立列為結核菌群成員之一，會感染海豹 (seal) 造成結核病，曾發生在動物園或野生動物公園中，因會造成人類感染而導致發病的群聚事件。另外也有報導 *M. pinnipedii* 可以由巴西貘 (tapirs) 及馬來貘、駱駝及人類中分離。由於 *M. pinnipedii* 獨具 PiD1，可與其結核菌群的成員區分。

④ 牛型結核菌，有多重宿主，近期報導分析收集來多達24種宿主的菌株，包含人類及牛、羊、鹿等野生或畜養動物。人類感染後主要會造成肺外結核病，在臺灣則以肺部結核病占多數。在2003年牛型結核菌的基因體首次被解析，之後累計的基因體資料顯示，藉由特定的基因缺失、單核苷酸多形性及 spoligotype，牛型結核菌由原先被分為4型：African 1 及 African 2 分布於非洲、European 1 分布於伊比利半島及 European 2 分布於全球。



後續在2020年藉由全基因體序列分析來自23個國家(缺乏亞洲、非洲及歐陸國家)的1,969株牛型結核菌，再次將牛型結核菌細分為LB1-4的4個主要世系及3未明(unknown)小分群。研究結果證實野生動物與牛型結核菌宿主的地緣相近性及接觸頻率，是決定牛型結核菌宿主種類的重要因子，而不是宿主的系統發生距離(phylogenetic distance)相似程度。LB1及LB2(African 2)世系牛型結核菌主要來自非洲與歐洲，LB3世系主要包含European 2基因型，主要來自美洲、歐洲與南非。而LB4世系主要包含European 1基因型，分布於全球。

結核菌群是一群會造成人類、動物或人畜共通的致病原。2018年世界衛生組織的結核病年報，估計全球約有142,000例人畜共通的結核病新個案，一共造成約12,500個案死亡。人畜共通結核病防治不容易，受限於現階段常用的傳統實驗室工具無法有效鑑別診斷各結核菌群成員，並且人畜共通結核病較常見肺外感染病灶易造成延誤診斷，更造成診療上的難度。2017年召開的

G20國際經濟合作高峰會中，各國領袖共同宣誓「銳化互聯世界(Sharpening an interconnected world)」，採取防疫一體(One Health)的概念及策略，優化人畜共通結核病防治之需求。並於同年正式發表「Roadmap for Zoonotic TB」指引。依據改善科學證據、降低人畜間傳播及加強跨單位部門的合作防治策略，解決全球人畜共通結核病。如果放眼影響人類甚鉅的其他已知、新興及未知傳染病，當環境上人類、動物與環境的接觸界線越來越模糊，病原的演化愈來愈難掌握時，如何快速運用有效的確認(檢驗試劑/方法)、預防(疫苗)及治療(既有/新藥物)是重要課題。

