

出國報告（出國類別：國際會議）

美國微生物學會第4屆沙門氏菌研討會: 細菌、宿主與環境

服務機關：國立中興大學 獸醫病理生物學研究所

姓名職稱：李貞潔 博士生

派赴國家：美國 波士頓

出國期間：102年10月4日至102年10月11日

報告日期：102年10月25日

摘要 (200-300 字；簡要綜述此行目的、過程及成果，非登錄論文摘要)

沙門氏菌(Salmonella)長久以來造成的感染事件層出不窮，在美國造成食物中毒的病原中甚至名列第一，其他國家也總有零星感染爆發。因此，ASM 針對沙門氏菌所開設的研討會就是為了讓來自世界各地的相關學者討論目前最新的沙門氏菌研究，好讓大家更能掌握這具潛在威脅性的公共衛生問題。會議期間為 103/10/5~9，但由於學者們來自世界各地，所以第一天的報到已是晚上 7:30 並沒有課程進行，但第二天開始便如火如荼地展開一連串了專題討論，內容相當地豐富多元，無論是沙門氏菌如何跟腸道內的其他細菌相處、沙門氏菌如何利用宿主的免疫系統增加自身的競爭力與毒力、沙門氏菌如何在抗菌物質存在下仍能有效的生存及增殖，或是微觀的沙門氏菌毒力基因群在不同環境下表現差異、沙門氏菌基因訊息調控等等，都有相當廣泛及深入的討論，著實令人收穫不少。

目次

目的-----	3
過程-----	3
心得與建議-----	7
附錄-----	7

目的

沙門氏菌(Salmonella)是一種可藉由飲食造成大規模感染的病原菌，由於清除不易及其為人畜共通傳染病的特性，在台灣及世界各地都早已成為公共衛生上的重要討論議題。American Society for Microbiology (ASM) 協會所舉辦的會議中就有專門討論沙門氏菌的研討會，會議期間五天(102/10/5~9)都在討論沙門氏菌相關發展及研究，因此在這個領域中的頂尖研究學者都會聚集於此，彼此交換資訊與想法，實為非常難得之會議。除了平常實驗室或臨床上在台灣常見的菌株及血清型，也可以接收到世界各地目前沙門氏菌流行狀況及血清型別差異等資訊，對於目前其他各國流行病學狀況或預測未來可能發生的細菌性狀改變的掌握度，都遠超過自己坐在電腦前下載專家學者的研究報告要來的多上許多。因此，為了與全世界研究沙門氏菌的實驗室接軌與及時了解各專家學者研究內容，的確有參與 ASM 沙門氏菌研討會之必要。

過程

第一天 (10/5)

由於與會人員來自世界各國，因此 10/5 的晚上 19:30 才開始進行報到手續，也因為時間已晚，開幕儀式及晚餐後便結束當天行程。

第二天 (10/6)

一連串的沙門氏菌相關研究成果報告從早上 9:00 便如火如荼地展開。當天讓我印象比較深刻的研究有：由 D. Monack 所報告之 The battle within macrophages: mechanisms of intracellular Salmonella recognition and evasion 報告中提及，沙門氏菌之所以不易清除，很重要的一個原因就是它會鑽入宿主細胞內躲起來，成功並有效的逃避宿主的免疫機制攻擊。哺乳動物體內很重要的免疫細胞-巨噬細胞(macrophages)也可以成功地被沙門氏菌感染，也因此沙門氏菌具有造成全面性的感染的能力。當然，細胞內也會有一些對抗病原感染的機制來柄除像沙門氏菌這種可以細胞內生存的病原菌，也因此宿主(細胞)與沙門氏菌之間的交互作用關係便顯得格外重要。當巨噬細胞被沙門氏菌感染時，巨噬細胞會啟動 caspase-11 pathway 讓細胞本身死亡，避免沙門氏菌在受感染細胞內大量增殖，但學者發現，沙門氏菌竟可以反過來利用細胞的 caspase-11 pathway 造成宿主的急性感染。另外，M2 巨噬細胞中一種與脂肪酸代謝有關的轉錄因子 PPAR δ 也被發現在沙門氏菌造成持續性感染時有表現量上升的情況，並且當沙門氏菌感染 PPAR δ 缺陷的巨噬細胞時，沙門氏菌無法在細胞內增殖，因此

研究推測沙門氏菌持續性地感染需仰賴於巨噬細胞的代謝系統正常表現。也就是說，經過長久的演化後，沙門氏菌可以利用宿主發展出來的抗菌機制反過來表現毒力，因為演化的結果讓細菌知道當它侵入宿主時就會啟動甚麼樣的抗病原機制，所以若能利用「一定會發生」的事件讓細菌本身表現出完整的感染能力，便是最再好不過的方式了。所以我們知道，當宿主在進化減少因感染造成傷亡的同時，病原菌也同步的在產生因應之對策以確保能感染宿主並繁衍其後代，維持一種動態的平衡。

由 J. S. Gunn 學者所報告之 *The gallbladder epithelium as a secondary niche for chronic Salmonella carriage* 中提到，沙門氏菌是一種可以成功生存於含有膽汁環境中的腸內菌，甚至它可以在腸道中沿著膽管逆行感染膽囊，並在膽囊中生存和增殖。先前的研究中指出，許多膽囊遭受沙門氏菌感染的病例中，常與膽結石的存在與否有關，因此推測膽結石或許是一種可以讓沙門氏菌附著的平台，因此沙門氏菌便可緊緊貼附在結石上增長複製，甚至形成對藥物或殺菌物質抵抗力極強的生物膜(biofilm)。學者發現，除了膽結石可以讓沙門氏菌附著之外，膽囊壁的上皮細胞其實也是沙門氏菌感染侵入的目標，研究發現，即使沒有膽汁刺激，沙門氏菌也可以憑藉沙門氏菌第一型病原島(pathogenicity islands -1, SPI-1)成功感染膽囊上皮細胞，並在生物體內和外皆成功地證實這個現象。因此，除了膽結石可能造成持續性或慢性的膽囊感染外，膽囊上皮細胞也提供沙門氏菌附著、侵入及增殖的所需條件。

第三天 (10/7)

沙門氏菌所在的腸道中，也存在許多其它不同的菌種共同生存在同一個環境裡，因此沙門氏菌勢必會與這些其他菌種有所「交流」，而這些交互作用機制也吸引了許多科學家們研究討論。在 B. Finlay 所報告的 *Crosstalk between microbiota and Salmonella* 研究中發現，沙門氏菌感染小鼠後會改變腸道中菌叢的分佈並引起炎症反應，而炎症反應中很重要的成員-嗜中性球(neutrophils)會在野外株沙門氏菌感染時聚集於腸道中改變腸道菌叢相，反觀 SPI-1&2 突變的沙門氏菌卻沒辦法造成嗜中性球聚集。學者另外投與 elastase 於小鼠腸道中發現會引起嗜中性球聚集進而造成菌叢改變，也觀察到 elastase 會增加沙門氏菌第一型與第二型病原島基因表現，並且在 elastase 缺陷的小鼠實驗中發現，即使令其感染野外株沙門氏菌，腸道中的沙門氏菌也不易生存。由此結果我們知道，第一型與第二型病原島表現可以刺激宿主免疫系統，進而利用嗜中性球浸潤來改變原有腸道中菌相分佈，打造一個適合沙門氏菌生存繁殖的環境，這也是另一種細菌在進化後經由利用宿主在感染時一定會發生的反應來

提升細菌自身生長優勢。

除了上述提到第一型與第二型病原菌會影響腸道內菌叢相分佈之外，另一組研究團隊也發現其他因沙門氏菌感染而引發的有趣的反應。主講人 M. Raffatellu 在 IL-22-mediated host antimicrobial defenses are exploited by Salmonella Typhimurium to compete with closely related commensal bacteria 報告中提及，當沙門氏菌感染宿主後經常造成其腸道發炎反應及炎症性下痢。腸道的黏膜面發生的這些發炎現象，若從以往免疫學的觀點來說對宿主是好事，因為它可以將沙門氏菌控制在特定區塊中並集中攻擊病原。但最近發現，有一種主要功能為組織修復及宿主黏膜抵抗有關的細胞激素-介白素-22(interleukin-22, IL-22) 可能與沙門氏菌在腸道中增殖有關。當宿主遭受病原感染時，會經由一連串訊息傳遞之後產生大量的介白素-22，當然這情形也發生在沙門氏菌感染時。然而科學家們卻發現，介白素-22 大量表現時會抑制腸道內菌叢並增進沙門氏菌聚積在小腸內。而更進一步的研究指出，介白素-22 會誘導宿主表現具有抗菌功能的蛋白 lipocalin-2 和 calprotectin，這兩種蛋白會殺滅大部分的腸內菌但沙門氏菌卻不受其影響。因此可想而知，當介白素-22 被沙門氏菌誘導表現時會間接地增加沙門氏菌與其他腸內菌的競爭力，並且進一步地發現在介白素-22 缺陷小鼠體內感染時也會發現其喪失競爭優勢。所以，沙門氏菌可以利用感染時所引起的介白素-22 大量表現這個現象，將同樣生活在腸道內的其他細菌盡量壓致，減少了跟沙門氏菌競爭養分及生存空間的其他腸內菌便會使得沙門氏菌得以安穩生存於小腸中，這也是數千萬年演化而來的現象。

第四天 (10/8)

經由 Calman A. MacLennan 所報告之 Antibodies, protection and vaccine development against invasive Salmonellosis 指出，在非洲地區盛行的具侵略性的非霍亂型沙門氏菌(invasive nontyphoidal Salmonellae, iNTS)對於兩歲以下缺乏抗體的孩童所造成的感染，已經是長年以來嚴重的公共衛生議題。由於研究發現，抗體所主導的抗侵略性的非霍亂型沙門氏菌能力才足以保護孩童以免造成嚴重感染，尤其是針對細菌表面 O 抗原所產生的抗體。以電子顯微鏡觀察，可以清楚看到抗體所誘導的殺滅沙門氏菌作用是透過收縮細胞內膜並濃縮細胞質而達成殺菌效果，但在感染愛滋病的病人體內則看不到這種現象，並且其補體沉澱現象也減少許多，這或許是許多愛滋病患者無法有效控制沙門氏菌感染的原因之一。但就一般而言，從臨床上所分離到的侵略性的非霍亂型沙門氏菌就算對於藥物具抵抗性，但大部分仍然可被抗體偵測到並進而殺滅。學者對於少部分對抗體不具敏感性的侵略性的非霍亂型沙門氏菌進行

序列分析後發現，這些對抗體不敏的的沙門氏菌僅是偶發狀況，在演化上並不具有優勢，推測應該是沙門氏菌可藉由被抗體標定後，被吞噬細胞辨識並帶入細胞內，藉此逃避作用於細胞外的宿主免疫系統，進而增加其生存機會。所以，既然沙門氏菌不被抗體辨識的突變並非是具有優勢意義的改變，我們可以知道沙門氏菌被抗體辨認是具有其生存上的重要性。因此，倘若能針對愛滋病感染病患抗體及初級免疫活性誘發進行研究，或許可以為這些因感染愛滋病而面臨沙門氏菌致命感染威脅的患者帶來一線希望。

沙門氏菌是個具威脅性的公共衛生隱憂，以往在臨床的治療上都是投以抗生素企圖殺滅這些病原。然而，由於沙門氏菌抗藥性問題日趨嚴重，許多國家開始提倡減少使用抗生素的以減少病原具抗藥性的策略。因此，使用有效的疫苗來遏止疾病的爆發便成為相當重要的防疫政策。活毒減毒疫苗雖然在使用上有疑慮，但不可否認的是活毒疫苗能有效的將許多細菌抗原呈現給免疫細胞辨識，因此誘發的免疫反應較為全面和持久。N. Wang 等人在 A carbon metabolic mutant of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium as a potential candidate for live-attenuated vaccine development 研究報告中指出，當沙門氏菌中與碳源代謝有關的基因 *edd*, *pfkA*, 以及 *pfkB* 缺陷(TAS2010)時，可以在感染小鼠 10 周內便被宿主清除完畢(與 *aroA* 缺陷株 BRD590 結果相似)，相較於感染野外株的小鼠在 10 天內便會死亡有明顯的保護效果。但若是將 TAS2010 與 BRD590 事先免疫小鼠後再以野外株沙門氏菌感染，則發現 TAS2010 比 BRD590 有更好的保護效果。由 TAS2010 與 BRD590 兩株菌株免疫小鼠後攻毒實驗可知，TAS2010 可以激起宿主更好的保護能力，雖然學者在報告中並未展示兩菌株免疫後在小鼠體內細胞激素的變化，但我猜想應該在相關細胞激素表現上會有明顯的差異。並且 TAS2010 並不會在宿主體內有效地複製累積，因此，當沙門氏菌的 *edd*, *pfkA*, 以及 *pfkB* 等與碳代謝能力相關基因被設計為缺陷時，或許就是個具有可以發展成為活毒減毒疫苗潛力的菌株。

第五天 (10/9)

沙門氏菌所產生的生物膜是一種防禦功能很強的隔膜，可以以有效地阻絕許多抗生素或抗菌物質的作用及外在惡劣環境的篩選，將沙門氏菌保護在穩定且安全的空間內。沙門氏菌特有的第二型病原島(*Salmonella* Pathogenicity Island-2, SPI-2)可以讓沙門氏菌在侵入細胞後製造一個小空泡(*Salmonella*-containing vacuole, SCV)並躲在裡面免於細胞內的免疫機制攻擊，而控制第二型病原島分泌的 two-component system *ssrA/B* 則是更被進一步的發現與生物膜形成有關。在會議最後一天 S. K. Desai 學者於 The role of *Salmonella*

pathogenicity island 2 (SPI-2) in biofilm formation 的報告中提到，不管是 *ssrA* 或 *ssrB* 缺陷的沙門氏菌，比起野外株的沙門氏菌都較不能形成完整的生物膜，但若過度表現 *csgD* 這個上游的控制因子或將 *H-NS* 缺損，都可以再度地讓突變株做出完整的生物膜。所以，學者認為，SPI-2 基因群除了與沙門氏菌毒力表現有關之外，可能還影響了生物膜形成的能力，對於沙門氏菌持續的生存有重要意義。這結果跳脫舊有對第二型病原島的觀念，不再將第二型病原島的意義僅限於「與沙門氏菌在細胞內的生存與繁殖有關」，而是更進一步地暗示它可能可以調控多種不同表現型(phenotype)，小至細菌用以抵抗細胞內小環境的能力，大到細菌阻擋自然界裡或惡劣環境中的有害物質，都與第二型病原島有關。因此，有更多未知的功能尚待我們去發掘，也不難想見病原島之所以成為科學家們熱烈討論話題之一的原因了。

心得及建議

由於沙門氏菌是一種環境中常在的菌叢，我們常常會忽略它潛在的危險性，待人類或動物因壓力或其他疾病造成免疫力下降時便伺機大舉顯現毒力造成嚴重感染，導致經濟損失甚至是生命威脅。因此，在世界各國的學術領域中，沙門氏菌早已是公共衛生議題中的重點。然而，在台灣與沙門氏菌相關的學術研討會議卻不多，學生或研究人員必須到其他國家參加相關研討會，再加上出國花費不貲，許多研究人員因此望而卻步。學生認為，補助出國的費用可以再增加一些，兩萬四千元的補助上限對於到美東參加研討會的學者而言真的太少了；另外，希望學界能多提倡此類專精領域的研討會議，讓相關學者透過討論得到更多資訊，提升我們的學術專業能力與世界無縫接軌。

附錄

1. 會議資料手冊



2. 會議地點



3. 海報張貼

