

# 從實驗室觀察細菌快速演化到 咖啡機細菌體多樣性的平衡

鍾筱菁 賈景山  
台大醫學院免疫研究所

## 一、前言

所謂“物競天擇、適者生存”，這個演化論也存在原核生物界，為了要適應環境的變化，能在艱困及具威脅性的環境下生存，細菌也會藉由“物競天擇、適者生存”的能力，演化成適應環境的族群延續下去。

## 二、共生菌快速改變基因表現及利用宿主因子適應環境變化並引起致命疾病

根據我們在實驗室的觀察結果可知，細菌一旦進入新的環境，可馬上感應到環境變化，且可在30分鐘內改變自己基因及蛋白表現來快速進行環境變化的適應<sup>1</sup>；一種存在口腔中的口腔鏈球菌(oral streptococci)，原本僅是一群引起蛀牙的人類共生菌，但也有可能在平時刷牙或一些口腔手術中，進入血液循環系統，若心臟瓣膜有受傷或不正常，這些細菌有機會附著其上而形成生物膜，進一步會引起致死率高達30%的感染性心內膜炎；而我們的研究顯示，這群口腔鏈球菌，並不會表現甚麼厲害的毒性因子，對抗生素也不具有抗藥性，但當從原本生存的口腔環境進入另一個完全不同的血液循環系統，所遇到的，不但養份的攝取來源不同，更充斥著人類免疫系統下的各類白血球及抗菌蛋白，而細菌為了要存活下來，先是快速改變攝取及代謝系統的基因蛋白表現，來適應環境養分來源的變化，另外，也會快速改變細菌表面蛋白的表現來逃避宿主免疫攻擊；我們所觀察到的是，這群口腔鏈球菌進入血液循環系統時，會感應環境鈣離子的變化，而快速增加一個細菌表面蛋白AtIA的成熟表現<sup>1</sup>，我們證明AtIA是一種血漿成分纖維結合蛋白的結合蛋白，其成熟的結果將增加細菌對纖維結合蛋白的結合能力，而將細菌包覆起來，減少被血液中白血球及抗菌蛋白辨識的機會，以逃避宿主免疫攻擊

；接下來這群細菌具有有趣的能力，它們會利用黏附在受傷瓣膜血小板並引起血小板活化的能力，能在瓣膜上形成細菌與血小板的生物膜<sup>2</sup>，再進一步吸引嗜中性白血球過來，但由於構造的關係，白血球無法清除這種細菌與血小板的生物膜，且會被刺激而釋放出帶有嗜中性白血球顆粒蛋白酵素的染色體結構，這種結構被稱為嗜中性胞外網外結構(**Neutrophil extracellular traps, NETs**)，這樣的結構不但會進一步刺激更多的血小板活化，也會活化血液凝集系統，使得細菌形成的贅生物更趨成熟<sup>3</sup>，進而破壞瓣膜功能及引起附近心臟組織的壞死，而導致死亡。這樣生物膜及贅生物的結構不只是吞噬性白血球無法清除，連抗生素都無法進行有效清除殺菌的效果，所以，在臨床上，感染性心內膜炎總要依靠長時間及高劑量的抗生素予以治療，但總是成效不好，且具高再發性，因此尋找有效預防及治療感染性心內膜炎的方法，是我們研究這類疾病的最終目的。

### 三、細菌利用突變或吸取外來基因達到不斷演化的目的

細菌除了已具備了可以快速改變基因蛋白的表現來適應環境的能力外，但若無法適應，可能會進行突變，而能夠生存的細菌將被篩選出，生存下來；另外，細菌還具有一個特性，在不同細菌同時存在的族群環境下，細菌可以吸取其他細菌的基因(例如抗藥基因)，來達到自己進化的潛在能力，例如，分析口腔中牙菌斑中的細菌族群，可發現在不同的細菌種類中，會擁有相同的基因<sup>4</sup>；此外，一篇有趣的研究結果顯示，即使細菌處於安逸穩定的環境下，它們也持續地在進化<sup>5</sup>，密歇根州州立大學的Lenski教授與他的同事們，在27年間，冷凍了每500代繼代培養的大腸桿菌，並分析這些已培養超過60,000代的大腸桿菌們，發現這些大腸桿菌相較於一開始的細菌祖先們，他們一直不斷的進化來更適應試管內的生存環境，且這種進化是沒有盡頭的。

### 四、咖啡機上的細菌生物族群的進化

另外一篇研究也是一個典型的例子<sup>6</sup>，咖啡因是一種對於一般細菌具有抑制生長效果的天然成分，普遍存於咖啡、茶及可樂等飲料中，對於人類主要是具有可以刺激中樞神經的效果，也有文獻指出咖啡因對於人類健康也具有正面效果，而本篇研究是在探討咖啡因是個篩選細菌演化的刺激原；這篇研究對9台雀巢咖啡膠囊機系統性的採樣了一

年，並利用高通量 (high throughput sequencing) 的技術鑑定並分析了咖啡機上的細菌的菌種，結果顯示一開始附著在咖啡機的菌種具多樣性，但是隨著時間增加，具有使咖啡因降解能力的細菌，包含腸球菌屬 (*Enterococcus* sp.) 及假單胞菌屬 (*Pseudomonas* sp.) 開始成為主要族群，而在過程中，也可能因一些細菌族群建立的需要或外在物理因素 (包含循環高溫或咖啡浸出的咖啡因的累積)，使得其中細菌種類互有消長，但最終會有一種適合細菌族群生存延續的平衡形成；且結果顯示，咖啡因的累積對於這樣細菌族群的形成，並不具有抑制作用，反而具有促進的角色，因此，高頻率的清洗對咖啡機保養才是最好的方法。

## 五、細菌生物膜是細菌不斷進化衍生出的社會族群，也是人類所面對最大的難題

由此可知，這些不斷進化的細菌，除了增加具優勢的基因表現外，另外一個適應環境最好的武器，就是形成生物膜；細菌生物膜的種類包羅萬象，除了單一細菌，複合細菌所形成的生物膜，還有我們前面介紹的與宿主細胞形成的生物膜，而它們共同的特性，就是對於抗生素及宿主免疫系統具有高度抵抗性；因此，目前高開發性的國家在對付細菌感染的疾病時，遇到最大的問題，就是與細菌生物膜相關的疾病的預防及治療。這種生物膜的構造，不是僅靠細菌本身的毒力因子造成，近期研究顯示，這是一種社會結構的概念，細菌們依靠特殊方法溝通來進行溝通，包含多胜肽，小分子或是離子，以達到細菌生物膜的擴展成熟<sup>7</sup>，這些不斷進化或具有生物模形成能力的細菌，通常對於抗生素具有高抗藥性，所以人類必須不斷發展新的武器去對付，其中包含小分子或多胜肽；這類物質除了希望具有殺菌或抑菌能力，最好是具有破壞或防止生物膜的能力；此外，針對生物膜形成的原理，例如前面所介紹的，口腔鏈球菌利用嗜中性白血球胞外網狀結構來達到生物膜擴展及成熟的特性，我們可利用去氧核醣核酸酶來去除胞外網狀結構，來達到瓦解或預防生物膜形成的效果，再配合抗生素的給予，可達到事半功倍的效果；諸如此類，針對這些利用會不斷進化，且會利用環境因子形成生物膜的細菌們，人類必須研究其致病機制，來發展相對的武器，已達到有效預防及治療感染性疾病的目的是。

## 參考文獻:

- 1.Jung CJ, Zheng QH, Shieh YH, Lin CS, Chia JS. *Streptococcus mutans* autolysin atla is a fibronectin-binding protein and contributes to bacterial survival in the bloodstream and virulence for infective endocarditis. *Mol Microbiol.* 2009;74:888-902
- 2.Jung CJ, Yeh CY, Shun CT, Hsu RB, Cheng HW, Lin CS, Chia JS. Platelets enhance biofilm formation and resistance of endocarditis-inducing streptococci on the injured heart valve. *J Infect Dis.* 2012;205:1066-1075
- 3.Jung CJ, Yeh CY, Hsu RB, Lee CM, Shun CT, Chia JS. Endocarditis pathogen promotes vegetation formation by inducing intravascular neutrophil extracellular traps through activated platelets. *Circulation.* 2015;131:571-581
- 4.Roberts AP, Kreth J. The impact of horizontal gene transfer on the adaptive ability of the human oral microbiome. *Frontiers in cellular and infection microbiology.* 2014;4:124
- 5.Lenski RE, Wisser MJ, Ribeck N, Blount ZD, Nahum JR, Morris JJ, Zaman L, Turner CB, Wade BD, Maddamsetti R, Burmeister AR, Baird EJ, Bundy J, Grant NA, Card KJ, Rowles M, Weatherspoon K, Papoulis SE, Sullivan R, Clark C, Mulka JS, Hajela N. Sustained fitness gains and variability in fitness trajectories in the long-term evolution experiment with escherichia coli. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society.* 2015;282
- 6.Vilanova C, Iglesias A, Porcar M. The coffee-machine bacteriome: Biodiversity and colonisation of the wasted coffee tray leach. *Scientific reports.* 2015;5:17163
- 7.Liu J, Prindle A, Humphries J, Gabalda-Sagarra M, Asally M, Lee DY, Ly S, Garcia-Ojalvo J, Suel GM. Metabolic co-dependence gives rise to collective oscillations within biofilms. *Nature.* 2015;523:550-554