

以蚊制蚊 – 應用沃爾巴克氏菌 感染埃及斑蚊預防登革熱

蕭孟芳 / 任職於紐西蘭北地旺阿雷醫院

◎前言

過去 10 年，節肢動物媒介病毒 (arbovirus) 如登革病毒 (DENV)、茲卡病毒 (ZIKV) 和屈公病毒 (CHIKV) 等蚊子傳播的病毒感染症在全球呈現上升的趨勢，這些節肢動物病毒感染症的主要病媒都是埃及斑蚊 (*Aedes aegypti*)。其中登革熱更是人類最重要的節肢動物媒介病毒傳染病¹。登革熱是斑蚊傳播的急性病毒感染症，由登革病毒 (四種血清型，DENV1-4) 感染引起的。登革熱疫區涵蓋全球一半以上的人口，約有 39 億人暴露在感染的風險中。世界衛生組織疾病監控報告顯示自千禧年以來的 20 年，全球登革熱通報的病例數激增 10 倍。全球貿易與氣候變遷使登革熱病媒蚊的版

圖不斷增大，疫情也不斷擴散，目前在 129 個國家流行，其中有 30 個國家發生相當嚴重的爆發流行，主要是在東南亞及中南美洲²。估計每年有 4 億人感染登革熱，其中約有四分之一的登革熱感染會出現臨床症狀，有 5% 的登革熱患者會演變成重度登革熱 – 登革熱出血熱或登革熱休克症候群，若無適當即時的治療，死亡率會超過 20%³。

由於缺乏有效的抗病毒藥物，目前治療登革熱是採用支持療法。而已研發的疫苗對血清陰性者有增加重症感染的風險，其臨床實用性及在公共衛生的預防效果尚有疑慮。因此，目前登革熱主要的預防策略是病媒防治，包括清除孳生源、噴灑殺蟲劑與個人防

護措施等，但季節性的爆發流行仍繼續發生，顯示這些傳統的病媒防治事倍功半，而廣泛大量使用殺蟲劑，不僅為害生態且加速抗藥性的擴散。科學家不斷地尋找有效的病媒蚊防治創新，共生體 (symbionts) 與基因驅動 (gene drive) 是蚊媒傳染疾病防治的兩種新策略⁴。基因驅動技術之應用雖較強大且有彈性，但有生態環境安全的顧慮。共生體不涉及基因改造，因此，使用共生體方法較為社會大眾接受且技術成熟較完善。

共生體策略是應用與蚊子共生的沃爾巴克氏菌 (*Wolbachia spp.*) 降低蚊媒傳染病，例如瘧疾、絲蟲病、西尼羅河熱 (West Nile fever)、屈公熱、黃熱病、茲卡及登革熱⁵。釋放沃爾巴克氏菌感染的蚊子以降低或預防蚊媒疾病，其作用機制不外乎是降低蚊媒族群數目及 (或) 存活率，或降低蚊媒傳播疾病的能力及 (或) 抑制致病原複製或發育。目前最有前景的應用是釋放帶有沃爾巴克氏菌株的埃及斑蚊作為登革熱防治，對人及環境的風險顯示可忽略不計⁶，而且此方法目前在許多國家的登革熱防治已取得令人鼓舞的成果^{7, 8, 9}。

台灣的白線斑蚊不是傳播登革熱的主要病媒，北中南各地的野外調查發現白線斑蚊帶有沃爾巴克氏菌的比例高達 97%，顯示台灣白線斑蚊對病毒感染的耐受性不好。而主要的病媒蚊埃及斑蚊在野外的族群並不帶有沃爾巴克氏菌，因此擬應用沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊以蚊制蚊，以達到防治登革熱的目的。本文綜述沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊在登革熱防治所扮演的角色，討論其抑制病毒的機制，同時闡述環境因素及演化對沃爾巴克氏菌、蚊子與病毒三者交互作用的影響。

◎ 改變世界的沃爾巴克氏菌

1924 年美國哈佛大學昆蟲學家馬修赫

蒂希 (Marshall Hertig, 1893-1978) 及病理學教授西梅恩伯特沃爾巴克醫師 (Simeon Burt Wolbach, 1880-1954) 兩人首次在尖音家蚊 (*Culex pipiens*) 的生殖器官的組織中發現沃爾巴克氏菌，赫蒂希於 1936 年將之命名為尖音沃爾巴克氏菌 (*Wolbachia pipientis*)。沃爾巴克教授很幸運有如此好的研究夥伴與同事，自己的姓氏被命名為引人注目的微生物，今年是發現沃爾巴克氏菌的百年紀念¹⁰。

沃爾巴克氏菌是一種類似立克次體的甲型變形菌 (*alphaproteobacterium*)，寄生在細胞內的革蘭氏陰性細菌，超過 60% 的昆蟲都有沃爾巴克氏菌共生，包括果蠅、蝴蝶、飛蛾、蜻蜓及蚊子。沃爾巴克氏菌經由昆蟲的卵垂直傳播到子代，雖然與宿主共生，但可操控宿主特徵與繁殖，確保雌性昆蟲存活，其策略是殺死雄性幼蟲、或使雄性不孕、以及使雌性孤雌生殖^{11, 12}。

在自然界，約有 30% 的蚊子帶有沃爾巴克氏菌¹³，雖然過去曾認為在自然界的埃及斑蚊不帶有沃爾巴克氏菌¹⁴，但最近的報告已分別在中國雲南¹⁵、菲律賓馬尼拉^{16, 17}及古巴哈瓦那¹⁸，均發現野生埃及斑蚊帶有沃爾巴克氏菌。

沃爾巴克氏菌在埃及斑蚊體內可與登革病熱毒競爭營養資源 (如脂質)，並上調埃及斑蚊的免疫反應，抑制細胞內登革病毒複製¹⁹。此外，沃爾巴克氏菌可抑制埃及斑蚊腦組織發育，中斷埃及斑蚊營養攝取，改變叮咬吸血的姿勢，降低吸血成功的機率，減少成蚊壽命²⁰。沃爾巴克氏菌不會使人類或其他動物 (如魚、鳥、貓狗等伴侶動物) 生病。

在實驗室經由胚胎顯微注射將沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊，例如來自黑腹果蠅

(*Drosophila melanogaster*) 的 wMel 沃爾巴克氏菌株或來自白線斑蚊的 wAlbB 沃爾巴克氏菌株，可以在埃及斑蚊族群穩定轉染 (transfection)(表一)。野放帶有沃爾巴克氏菌株的埃及斑蚊後，隨著時間的推移，經由母系傳播沃爾巴克氏菌，產生基因滲入作用 (introgression)，使沃爾巴克氏菌在當地的埃及斑蚊族群中擴散，造成埃及斑蚊有高盛行率的沃爾巴克氏菌感染，取代原有的野生埃及斑蚊族群，此策略在澳洲東北地區、馬來西亞及太平洋島國之釋放均相當成功^{7, 21, 22, 23}。

◎細胞質不相容

帶有沃爾巴克氏菌的雄性埃及斑蚊與不帶有沃爾巴克氏菌的雌性埃及斑蚊交配，因細胞質不相容 (cytoplasmic incompatibility)，精子和卵子受精雖然可形成胚胎，但在完全發育前死亡，蚊卵無法孵化，無法產生可以存活的後代，因而減少埃及斑蚊的族群數量¹²。因此，若在田野只釋

放帶有沃爾巴克氏菌的雄性埃及斑蚊可以抑制埃及斑蚊族群數目。

如果疫區的雌雄蚊均帶有沃爾巴克氏菌，且是同一沃爾巴克氏菌株，交配時所產生的細胞質不相容現象是單向的 (unidirectional)。無論雄蚊是否攜帶沃爾巴克氏菌，與攜帶沃爾巴克氏菌的雌蚊交配後所產下的卵是可以孵化的 (表二)。由於沃爾巴克氏菌是由母系傳播的，攜帶沃爾巴克氏菌的雌蚊其後代 (雄蚊和雌蚊) 將從雌蚊那裡繼承沃爾巴克氏菌，這就是我們能夠在實驗室中飼養大量帶有沃爾巴克氏菌斑蚊的方式。在田野釋放帶有沃爾巴克氏菌的雄性與雌性埃及斑蚊不會改變埃及斑蚊族群數量，但沃爾巴克氏菌可滲入當地的埃及斑蚊族群，取代野生埃及斑蚊族群。

然而，如果蚊媒雌雄交配時，蚊媒族群中存在兩種不同的沃爾巴克氏菌株，產生細胞質不相容現象是雙向的 (bidirectional)

表一：沃爾巴克氏菌株穩定轉染登革熱病媒蚊的例子

| 沃爾巴克氏菌株 | 原宿主 | 轉染宿主 | 在新宿主的表型 (phenotype) |
|-------------|------|------|------------------------------------|
| wMel | 黑腹果蠅 | 埃及斑蚊 | 細胞質不相容 / 干擾登革熱病毒複製 |
| wMelPop-CLA | 黑腹果蠅 | 埃及斑蚊 | 細胞質不相容 / 干擾登革熱病毒複製 / 吸血行為改變 / 口器彎曲 |
| wAlbB | 白線斑蚊 | 埃及斑蚊 | 細胞質不相容 / 干擾登革熱病毒複製 |
| wAlbA, B | 白線斑蚊 | 埃及斑蚊 | 局部細胞質不相容 |
| wRi | 模擬果蠅 | 白線斑蚊 | 細胞質不相容 |
| wMelPop | 黑腹果蠅 | 白線斑蚊 | 細胞質不相容 / 縮短蚊子壽命 / 胚胎死亡 |
| wPip | 尖音家蚊 | 白線斑蚊 | 細胞質不相容 / 降低卵孵化率 / 降低生育率 |

(表三)。單向或雙向細胞質不相容都會導致族群壓制作用¹²。單向細胞質不相容時，若雌蚊也帶有沃爾巴克氏菌，也會驅動族群取代作用，帶有沃爾巴克氏菌的蚊卵可與任何雄蚊(無論是否帶有沃爾巴克氏菌)的精子受精成功，但未帶有沃爾巴克氏菌的蚊卵只能與未帶有沃爾巴克氏菌的雄蚊精子成功受精。因此，帶有沃爾巴克氏菌的雌蚊產生的後代數量比未帶沃爾巴克氏菌的雌蚊所產生的子代多。因為沃爾巴克氏菌僅透過母系遺傳，子代感染沃爾巴克氏菌的頻率隨著每一代增加。

蚊媒族群中如果同時存在兩種不同的沃爾巴克氏菌株，導致的雙相細胞質不相容是無法產生族群取代作用，這對應用沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊作為防治登革熱的策略可能

會有深遠的影響。因此，應用沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊抑制登革病毒傳播，疫區埃及斑蚊族群的田野調查是相當重要的。

◎ 族群壓制或族群取代

以沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊作為預防登革熱的工具，有兩種策略(表四)。其一是在田野只釋放沃爾巴克氏菌感染的雄蚊，與野生雌蚊交配後蚊卵不會孵化，達到降低斑蚊族群數量的目的，此為族群壓制作用(population suppression)，可減少被叮咬吸血的風險而減少登革熱發生率。新加坡於2016年開始試點釋放帶有wAlbB沃爾巴克氏菌株感染的雄性埃及斑蚊，分5期在登革熱高風險區完成田野對照試驗，並於2018年至2022年完成釋放，每週釋放2次。研究地點核心區域的埃及斑蚊數量減少

表二：單向沃爾巴克氏菌(單一菌株)對埃及斑蚊交配產生子代的影響

| 雌性埃及斑蚊 | 雄性埃及斑蚊 | 受精卵 | 子嗣 |
|----------|----------|--------|----------------|
| 不帶沃爾巴克氏菌 | 不帶沃爾巴克氏菌 | 正常 | 存活 不帶沃爾巴克氏菌 |
| 不帶沃爾巴克氏菌 | 帶有沃爾巴克氏菌 | 細胞質不相容 | 無法孵化 無子代 |
| 帶有沃爾巴克氏菌 | 不帶沃爾巴克氏菌 | 正常 | 存活 帶有沃爾巴克氏菌 |
| 帶有沃爾巴克氏菌 | 帶有沃爾巴克氏菌 | 正常 | 存活 帶有沃爾巴克氏菌 |

表三：雙向沃爾巴克氏菌對埃及斑蚊交配產生子代的影響

| 雌性埃及斑蚊 | 雄性埃及斑蚊 | 受精卵 | 子嗣 |
|------------|------------|--------|------------------|
| 帶有沃爾巴克氏菌 R | 帶有沃爾巴克氏菌 R | 正常 | 存活 帶有沃爾巴克氏菌 R |
| 帶有沃爾巴克氏菌 R | 帶有沃爾巴克氏菌 G | 細胞質不相容 | 無法孵化 無子代 |
| 帶有沃爾巴克氏菌 G | 帶有沃爾巴克氏菌 R | 細胞質不相容 | 無法孵化 無子代 |
| 帶有沃爾巴克氏菌 G | 帶有沃爾巴克氏菌 G | 正常 | 存活 帶有沃爾巴克氏菌 G |

了 98%，登革熱病例減少了 88%，干預效力達 77%²⁴。此策略需要不斷釋放大量沃爾巴克氏菌感染的雄性埃及斑蚊，成本效益是重要的考量。

族群壓制策略最重要的是必須確保不會在田野意外釋出帶有沃爾巴克氏菌的雌蚊，如果意外釋放帶有沃爾巴克氏菌的雌蚊，就可能與釋出的雄蚊交配繁殖下一代，無法產生細胞質不相容，蚊媒族群數目不會減少。

另一個策略是族群取代作用 (population replacement)，在野外釋放的埃及斑蚊無論雌雄均帶有沃爾巴克氏菌，讓沃爾巴克氏菌在族群擴散。此策略雖也會因細胞質不相容使局部埃及斑蚊族群減少，但最終目的是取代不帶有沃爾巴克氏菌的野生族群。有些沃爾巴克氏菌株會干擾登革病毒在蚊子組織中複製，由於病毒複製被抑制，蚊子傳播病毒能力下降，可預防登革熱爆發流行。因此，應用族群取代策略時必須謹慎選擇沃爾巴克氏菌株，不僅能干擾或抑制病毒複製，且能成功滲入蚊媒族群。馬來西亞於 2017 年至 2022 年在雪蘭莪 (Selangor) 地區展開釋放 wAlbB 沃爾巴克氏菌株埃及斑蚊，wAlbB 沃爾巴克氏菌株不僅有效阻斷登革病毒傳播，且對高溫穩定，適合於炎熱的熱帶氣候區域釋放。與控制地點比較，登革熱病例平均減少 62%，且發病率降低與埃及斑蚊感染 wAlbB 沃爾巴克氏菌株的頻率增加有關，估計帶有 wAlbB 沃爾巴克氏菌株頻率達 100% 的地點，病例減少 76%⁷。

由澳洲非營利組織發起的「世界蚊子計劃」(World Mosquito Program)，與蒙納許大學 (Monash University) 合作，採用族群取代策略，在疫區釋放 wMel 沃爾巴克

氏菌感染的雌雄埃及斑蚊作為防治登革熱的工具，讓沃爾巴克氏菌滲入疫區埃及斑蚊族群，取代野生埃及斑蚊族群。主要的作用是與病毒競爭營養並干擾病毒複製，因此傳播登革病毒的能力降低。此策略的優勢是釋放帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊所需要的數量少，釋放次數少，成本效益較高。

自 2010 年起「世界蚊子計劃」由澳洲開始試點實施，迄今在拉丁美洲、亞洲和大洋洲共有 14 個國家參與該計畫 (<https://www.worldmosquitoprogram.org/en/global-progress>)。北澳凱恩斯一些社區在 10 年前曾短期釋放過沃爾巴克氏菌埃及斑蚊，在此期間的監測顯示沃爾巴克氏菌一直保留在當地埃及斑蚊體內，無須進一步釋放。重要的是，這些地區的登革熱傳播已明顯降低，通報病例減少 93%。城市湯斯維爾 (Townsville) 連續 5 年無本土感染病例發生。昆士蘭遠北地區現在基本上是無登革熱，這是 100 多年來首見。

印尼日惹市於 2017 年執行隨機控制試驗釋放計劃，釋放 2 年後，發現埃及斑蚊帶有沃爾巴克氏菌感染率接近 100%。流行病學調查發現佈署沃爾巴克氏菌埃及斑蚊 3 年後，登革熱發生率降低 77%，住院減少 86%⁹。

哥倫比亞於 2015 至 2016 年大規模釋放沃爾巴克氏菌埃及斑蚊後，2022 年調查研究報告顯示釋放區的登革熱病例已降至 20 年來的最低水平，登革熱病例減少超過 95%，保護地區人口數超過 350 萬人²⁵。但其他地區的流行病學分析顯示沃爾巴克氏菌抑制登革熱的影響是不同的，在巴西，沃爾巴克氏菌滲入當地的埃及斑蚊族群是受限的²⁶，登革熱和屈公熱的發生率分別只下降 38% 及 10%²⁷。

◎借鏡巴西的經驗

世界蚊子計畫與巴西衛生部合作，投資 1,900 萬美元在該國建造了一座蚊子巨型工廠，預計從 2024 年開始，每年生產 50 億隻帶有沃爾巴克氏菌的蚊子，並進行田野釋放。這是世界上最大的生物工廠，可能作為未來全球開發沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊的模型。不可否認的，在一個工廠飼養如此大量的蚊子或蚊卵，然後運輸分送到全國各地區釋放是不容易的。研究發現要能成功散播沃爾巴克氏菌取決於當地的流行病學特徵，包括詳細的氣候資料和環境因素、當地不帶沃爾巴克氏菌斑蚊族群的大小、沒有限制蚊子擴散的地理障礙，以及最重要的是，當地蚊子和所釋放蚊子之間的基因匹配。釋放蚊子成功入侵當地所需的遺傳特徵包括蚊子對殺蟲劑反應的相關遺傳特徵，巴西第一次釋放 wMel 沃爾巴克氏菌埃及斑蚊後的

基因滲入就是一個例子，該基因滲入幾乎完全失敗，在蚊子釋放停止後的幾週內，帶有沃爾巴克氏菌埃及斑蚊的比率從 65% 下降到 10%。這種失敗的根本原因是與本地埃及斑蚊相比，釋放的埃及斑蚊中抗除蟲菊精 (pyrethroid-resistant) 基因型的頻率較低。當地埃及斑蚊族群對除蟲菊精具有高度抵抗力，而當地過度使用除蟲菊精則選擇性地殺死了感染沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊。解決之道是使用當地野生埃及斑蚊，構建新的回交蚊子品系 (backcrossed mosquito line) 使感染沃爾巴克氏菌的族群帶有當地埃及斑蚊的遺傳特性，沃爾巴克氏菌才能成功入侵。隨後每隔兩代用來自田野同一群體的雄性埃及斑蚊不斷更新實驗室群體。

以巴西模式，可預知並避免因沃爾巴克氏菌釋放所產生相關的雙面刃效應²⁸。埃及

表四：應用沃爾巴克氏菌族群壓制或族群取代策略的差異

| 策略 | 族群壓制 | 族群取代 |
|---------|---|--|
| 方法 | 只釋放帶有沃爾巴克氏菌的雄蚊 | 釋放帶有沃爾巴克氏菌雄蚊與雌蚊 |
| 技術 | 將雄蚊分出，只能用成蚊 | 不需分雌雄，可釋放蚊卵 |
| 次數 | 多次、大量、連續 | 少次、少量 |
| 機制 | 細胞質不相容 (cytoplasmic incompatibility) | 基因滲入 (introgression) |
| 目的 | 蚊卵不會發育 | 抑制病毒複製 (傳播) |
| 結果 | 蚊子族群數目降低，減少被叮咬而罹病的風險。 | 沃爾巴克氏菌感染的蚊子取代野生族群，蚊子族群數目不受影響，但蚊子感染病毒比例降低。 |
| 永續性 | 必須連續釋放 | 不須連續釋放 |
| 防治的影響 | 間接的 | 直接的 |
| 成本 | 較高 | 較低 |
| 實行國家及成效 | 新加坡 (2016-2022) 埃及斑蚊族群減少 98%，登革熱病例減少 88%。 | 參與世界蚊子計畫的 14 個國家 (從 2010 年開始迄今持續進行中)。登革熱病例大幅下降，依地區有差異，澳洲東北部疫區已無本土病例。 |

斑蚊族群的抗藥性已遍及世界各地 (<http://aedes.irmapper.com>)，應用沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊預防登革熱的正面效果，應該會促進沃爾巴克氏菌在世界各地其他登革熱流行地區推廣部署，可避免蚊媒抗藥性進一步惡化。埃及斑蚊族群具有異質性，沃爾巴克氏菌株在全國各地釋放，如果埃及斑蚊的遺傳特徵是屬於某特定地點的回交品系，則會導致蚊媒族群出現意想不到的同質化。從長遠來看，埃及斑蚊若在大面積地理範圍內同質化，可能會帶來搭順風車的不良後果，如促進更強的傳播病毒能力、對驅蚊劑和殺蟲劑的敏感性降低、或更狂熱的尋找宿主和叮咬吸血行為等。現有數據顯示，確保依據當地流行病學特徵，特別是當地埃及斑蚊和釋放埃及斑蚊之間的遺傳匹配，對於提高在田野實現更快基因滲入的可能性相當重要，此可在全球各地節省成本和時間。除了殺蟲劑抗性之外，可能還有許多尚未發現的特徵可能會影響蚊媒的局部適應力，並會影響釋放菌株的成功。因此，忽視遺傳多樣性而統一飼養帶有沃爾巴克氏菌的同質化埃及斑蚊並在全國各地釋放，對未來的釋放是不利的。在不同的生態和流行病學情況下，釋放具有同質基因型蚊子的後果，是長期研究的關鍵性研究重點，此對於蚊媒疾病的防治決策及永續管理至關重要。

◎ 沃爾巴克氏菌抑制病毒的機制

沃爾巴克氏菌影響病毒複製的主要因素包括沃爾巴克氏菌株、蚊媒宿主種類及病毒複製模式¹⁹。沃爾巴克氏菌抑制病毒複製的現象是在攜帶 wMel 沃爾巴克氏菌株的黑腹果蠅首次得到證實。而將沃爾巴克氏菌轉染到埃及斑蚊，發現可以抑制登革病毒及其他人類致病性節肢動物病毒（如茲卡病毒及屈公病毒）的傳播。影響沃爾巴克氏菌抑制蚊媒病毒複製的重要因素包括沃爾巴克氏菌密度、沃爾巴克氏菌感染的組織、沃爾巴克

氏菌株基因型等。抑制病毒複製的機制則與免疫基因活化、誘發產生活性氧 (reactive oxygen species) 及營養代謝競爭有關²⁹。

蚊媒能成功傳播病毒，在吸血後其首要條件是病毒必須越過蚊子中腸上皮細胞抵達唾液腺而具有感染性。證據顯示阻斷病毒複製必須是沃爾巴克氏菌與病毒在宿主相同的細胞發生共同感染 (co-infection)，在中腸及唾液腺存在大量沃爾巴克氏菌可能是強有力抑制病毒的至關重要現象。沃爾巴克氏菌株在蚊子體細胞（如中腸及唾液腺）的分佈差異很大，而不同株的沃爾巴克氏菌抑制病毒的先天阻斷能力亦存在根本的差異，且此種差別與在體細胞內的沃爾巴克氏菌密度無關。例如，wAlbB 與 wPip 這兩種沃爾巴克氏菌株在中腸及唾液腺細胞內的密度很高，但對抑制病毒複製的影響並不特別明顯。

沃爾巴克氏菌抑制病毒複製的機制無法完全以蚊子先天免疫力解釋，但與宿主細胞內在的環境有密切的關係。在宿主細胞內，沃爾巴克氏菌寄生於細胞質中具有多層細胞膜的囊泡 (vacuoles) 內，從沃爾巴克氏菌基因體定序發現共生體無法代謝某些膜成份，而必須依賴宿主提供許多形成膜的材料。從沃爾巴克氏菌感染蚊子細胞的脂質體分析發現宿主神經鞘脂 (sphingolipids) 及神經醯胺 (ceramides) 被耗盡，而蛋白質體分析顯示囊泡運輸受到破壞，表示宿主細胞加工神經鞘脂的能力可能受到影響。以 wMelPop 沃爾巴克氏菌株感染埃及斑蚊細胞，發現會形成富含酯化膽固醇的脂滴 (lipid droplets)，同時也發現游離的細胞膽固醇減少了。脂滴是富含脂質的細胞器，可調節中性脂質的儲存和水解，主要存在於脂肪組織中，是膽固醇和甘油酯的儲存庫。使用親脂性環糊精 (cyclodextrins) 的實驗可使這些脂滴分散，且能部份恢復登革病毒複製而不影響沃爾巴克氏菌的含量，顯示宿主

脂質對登革病毒複製的重要性。

沃爾巴克氏菌抑制病毒複製繁殖的其他機制，包括沃爾巴克氏菌的存在可誘導產生活性氧，可能與先天免疫超級路徑 (Toll) 的活化及埃及斑蚊抗菌勝肽的產生有關。也有證據顯示沃爾巴克氏菌株可能具有調節宿主細胞的自噬作用 (autophagy)，含有沃爾巴克氏菌的胞內體 (囊泡) 與自噬溶體融合，增加自噬作用週轉率，可以降低沃爾巴克氏菌的含量，因此，沃爾巴克氏菌可能會抑制自噬作用，以利生存。此外，登革病毒在哺乳動細胞可誘發自噬作用，造成脂滴的加工及隨後的貝塔氧化 (β -oxidation) 產生能量 ATP，創造一個具有能量的環境，以利病毒複製。因此，沃爾巴克氏菌與病毒之間可能在細胞自噬作用的調節存在拮抗作用。

正向鏈核糖核酸病毒 [(+)RNA virus] 複製的高度保守特徵是依賴病毒誘導胞器膜重組形成次細胞區室 (cellular compartments)，此包括粒線體、溶體及內質網等，不僅提供病毒複製的物理架構與複製裝備，並保護病毒成份防止宿主免疫因子的傷害。有些脂質 (特別是神經鞘脂及包括膽固醇在內的固醇) 在決定膜的柔韌性與鋼硬度具有關鍵的角色，確保適當的膜脂成份對於促進膜變形及正向鏈核糖核酸病毒複製複合體的組裝與功能至關重要。證據顯示一些病毒甚至可以操縱宿主脂質合成及運輸路徑以便在病毒複製時增加供應局部所需的脂質。而沃爾巴克氏菌可干擾膜脂質的合成，並打亂脂質的輸送與分佈，影響脂質在細胞內的穩定平衡，阻斷病毒複製。

◎ 沃爾巴克氏菌增強病毒複製的疑慮

沃爾巴克氏菌是否會增強病毒複製作用也是一個眾所關心的議題¹⁹，從田野捕捉到帶有 wMel 沃爾巴克氏菌埃及斑蚊的研究

證實沃爾巴克氏菌可增強正向鏈核糖核酸病毒的現象，發現昆蟲特異黃質病毒 (insect-specific flaviviruses/ISFs) 的感染率增加。此實驗的野生埃及斑蚊樣本來自澳洲凱恩斯，但帶有 wMel 沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊與不帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊的檢體來自不同的區域，以專一性的引子做聚合鏈反應，將 ISFs 的片段增幅並定序。分析結果與無沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊比較，發現帶有 wMel 沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊其 ISFs 感染率較高。雖然此研究的發現與 wMel 沃爾巴克氏菌株可增強 ISFs 的結果一致，但實驗檢體數目有限及樣本採集不是來自同一地區，其所觀察到 ISFs 感染率的高低，可能是單純因地理上的差異而有 ISFs 多寡的問題，也可能是埃及斑蚊宿主背景的差異所造成的。此外，在實驗室飼養的埃及斑蚊，並未發現 wMel 沃爾巴克氏菌埃及斑蚊的 ISFs 感染率較高。

迄今為止，在 50 多個有關沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊與白線斑蚊可增強病毒複製的實驗中，只有一個研究是與人類致病性有關的。在重新檢視 wMel 沃爾巴克氏菌株感染埃及斑蚊與登革病毒複製的關係中，發現當感染的登革病毒效價低時，wMel 沃爾巴克氏菌株可以提升登革病毒的感染率，但此研究結果的統計分析模式及統計差異的力度受到質疑。

數個研究顯示沃爾巴克氏菌可增強昆蟲特異病毒的效價，昆蟲特異病毒無法在脊椎動物細胞複製繁殖，因此，不構成對公共衛生的顧慮。然而，在同一宿主發生共感染時，昆蟲特異病毒具有潛能可以與人類節肢動物病毒交互作用並調控病毒複製，此機制稱為超感染排他作用 (superinfection exclusion)，亦即當宿主細胞感染某病毒時，會降低第二個病毒感染的複製能力。超

感染排他作用的現象已多見於昆蟲特異病毒與人類節肢動物病毒之共同感染，例如帶有昆蟲特異家蚊黃質病毒的尖音家蚊，會降低西尼羅河病毒的擴散。感染沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊細胞株有較高效價的安菲病毒，對登革病毒及茲卡病毒的複製有輕微的抑制作用。體外實驗在埃及斑蚊細胞株可見沃爾巴克氏菌密度與增強濃稠病毒之複製成正相關，而在白線斑蚊細胞株的實驗可見濃稠病毒可抑制登革病毒複製。如果在田野的斑蚊族群出現沃爾巴克氏菌增強昆蟲特異病毒複製的現象，顯示超感染排他作用之機制可以解釋沃爾巴克氏菌降低埃及斑蚊傳播節肢動物病毒的能力。

總之，沃爾巴克氏菌可以調控宿主細胞對某些病毒感染的感受性，而這主要取決於沃爾巴克氏菌株與宿主種類。目前有大量的證據顯示沃爾巴克氏菌對正向鏈核糖核酸病毒（包括大多數的人類節肢動物病毒病原體）有抑制作用，雖然有少數的例子顯示沃爾巴克氏菌在昆蟲體內可增強正向鏈核糖核酸病毒複製，但這些發現的實驗設計與結果解釋都有爭議。至於沃爾巴克氏菌對負向鏈核糖核酸病毒（主要是昆蟲特異病毒）的調控影響，顯然更加細膩，藉由超感染排他作用或改變蚊媒宿主對病原體適應的忍受度，影響節肢動物病毒的傳播。

◎環境因素對沃爾巴克氏菌埃及斑蚊與登革病毒交互作用的影響

溫度與營養是影響蚊媒宿主細胞內沃爾巴克氏菌密度的主要環境因素³⁰。隨著全球氣候變遷，溫度影響蚊媒族群移動與地理分佈，而蚊子的生殖、存活、共生關係與群集行為都與溫度有關，進而影響蚊媒的遷徙適應與疾病流行病學。溫度也是決定蚊子宿主細胞內沃爾巴克氏菌密度的重要因子，如同蚊子一樣，沃爾巴克氏菌對溫度的變化敏感，呈現溫度依賴關係，可影響細胞質不

相容、阻斷病毒複製與經卵垂直傳播。較高的溫度增加蚊媒宿主細胞內沃爾巴克氏菌密度，此乃因較高的溫度使沃爾巴克氏菌繁殖更快。而較高的溫度也會增強病毒的複製及毒力，且會影響蚊子的免疫系統。高溫也會活化噬菌體溶解週期，導致病毒溶解沃爾巴克氏菌，降低沃爾巴克氏菌密度，減弱細胞質不相容的作用。

沃爾巴克氏菌抑制病毒複製的效力能維持多久？迄今尚未有報告顯示登革病毒逃脫沃爾巴克氏菌的抑制作用而產生突變¹⁹。然而，不同株的沃爾巴克氏菌對溫度的反應是不同的，環境溫度升高可使 wMel 及 wTcon 沃爾巴克氏菌株密度下降，但對 wAlbB 沃爾巴克氏菌株則不受影響。在高溫（大於攝氏 34 度）的環境時，帶有 wMel 蚊卵的孵化率下降，成蚊的 wMel 沃爾巴克氏菌密度明顯減少，導致沃爾巴克氏菌的母體傳播及細胞質不相容外顯率 (penetrance) 都下降，並大幅降低其抑制登革病毒傳播的能力。相反的，wAlbB 沃爾巴克氏菌株在高溫的環境是穩定的，因此，在極端高溫的氣候，使用不同沃爾巴克氏菌株對登革熱的防治是有影響的。面對氣候變遷，是否具有長期穩健的效力，選擇適當的沃爾巴克氏菌株是很重要的。此外，使用具有高溫穩定性的沃爾巴克氏菌株可以降低病毒突變逃脫抑制的風險，即有足夠密度（濃度）的沃爾巴克氏菌可抑制病毒以預防病毒產生突變 (mutant prevention concentration)，此與藥物抗藥性的概念相似，使用足夠的劑量及治療時間避免產生抗藥性。總之，沃爾巴克氏菌藉干擾細胞功能而抑制病毒複製，此機制如何受高溫的影響，需進一步研究闡明。

最近的研究預測澳洲凱恩斯的平均氣溫升高在冬季有助於 wMel 沃爾巴克氏菌滲入族群，但夏季的平均溫度則會超過 wMel

沃爾巴克氏菌所能忍受的溫度閾值，而使帶有 wMel 沃爾巴克氏菌的族群短暫減少，如果熱浪超過 2 週，就需執行調適釋放措施。而在熱帶的越南芽莊市，平均氣溫升高對 wMel 沃爾巴克氏菌的負面影響更明顯，在最嚴格的假設條件下，估計持續 3 週或更長時間的熱浪就會將 wMel 沃爾巴克氏菌消除。平均氣溫升高對 wMel 沃爾巴克氏菌的影響在 2050 年代將變得更棘手³¹。

溫度改變也與濕度變化有關，但迄今尚未有單一研究可以說明濕度對沃爾巴克氏菌密度的影響。其他因子如光照週期與晝夜節律是否會影響沃爾巴克氏菌密度均有待探討。在氣候不斷變化的時代，使用沃爾巴克氏菌作為登革熱生物防治工具，了解沃爾巴克氏菌與埃及斑蚊對全球暖化的反應是相當重要的。

沃爾巴克氏菌缺乏製造胺基酸及脂質的基因，有賴宿主的營養而存活，因此沃爾巴克氏菌會與宿主及其他存在宿主內的病原體競爭營養資源。蚊子細胞內沃爾巴克氏菌密度與宿主細胞可用的營養資源呈正相關，缺乏或減少營養資源導致蚊子細胞內的沃爾巴克氏菌密度下降，會間接影響細胞質不相容及阻斷病毒複製的能力。溫度也促進蚊子腸腔菌落的繁殖，與沃爾巴克氏菌競爭營養資源。

蚊子以糖水為生，雌蚊需要血餐 (blood meal) 才能完成其生殖週期，蚊子不僅需要不同的飲食成份以供應其生長繁殖，且須維持沃爾巴克氏菌共生所需的生理作用、免疫反應與應對化學環境的挑戰。天然糖分可增加宿主細胞內沃爾巴克氏菌密度，但酵母菌會抑制沃爾巴克氏菌密度。

來自血餐的胺基酸可為雌蚊脂肪體所用，是蚊卵合成卵黃蛋白所需。沃爾巴克氏

菌不僅將蚊子產生的胺基酸分解代謝，作為繁殖所需的營養來源。沃爾巴克氏菌進入蚊子卵巢，藉由蚊子卵黃生成素經卵傳輸系統 (vitellogenin transovarial transportation system) 進入發育中的卵母細胞。當卵母細胞發育時，沃爾巴克氏菌在卵母細胞內複製增生，導致蚊卵產量減少。了解沃爾巴克氏菌生長所需的營養因子，及其與蚊媒宿主及病毒的交互作用，有助於維持沃爾巴克氏菌與宿主共生的穩定關係。

應用沃爾巴克氏菌作為登革熱生物防治策略是否能成功，端視沃爾巴克氏菌與埃及斑蚊共生的穩定關係。為防止共生不穩定，必須持續監測蚊媒族群中感染沃爾巴克氏菌的頻率，一旦發現感染沃爾巴克氏菌的頻率太低時，就要採取行動在田野釋放大量帶有沃爾巴克氏菌的蚊子，以提升蚊媒族群感染沃爾巴克氏菌的頻率。另外的方法是，選擇性育種繁殖較能感染沃爾巴克氏菌的蚊子，在野外釋放此種經過選擇培育具有高頻率感染沃爾巴克氏菌的蚊子。監控過程除了監測蚊媒族群大小、亦收集環境數據如溫度與雨量變化，依據蚊媒族群及季節模式等資訊可決定釋放的時間與規模。

抗生素廣泛使用於醫藥業及畜牧業，因釋放到環境，導致污染水源，環境污染水中抗生素的存在可能對登革熱防治計劃所使用沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊產生不利的影響，因而減少沃爾巴克氏菌在埃及斑蚊擴散的潛力，降低阻斷登革熱傳播的效果。四環黴素 (tetracycline) 是廣效抗生素，對許多細菌及原蟲具有毒殺或抑制作用。感染沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊若在水生發育過程中接觸微量的四環黴素可能使沃爾巴克氏菌消失或減少。在一項實驗中，發現氯四環黴素 (chlortetracycline) 的濃度在每升 5 至 50 微克時，三種沃爾巴克氏菌株 wAlbB、

wMel 及 wMelPop 在埃及斑蚊感染的密度消失或減少，其中 wMel 及 wMelPop 兩菌株無法產生細胞質不相容，只有 wAlbB 菌株仍維持細胞質不相容的特性³²。

埃及斑蚊可棲息在排水溝或地下水源中，特別是在乾旱的季節，在這種情況下，發育中的蚊子可能接觸水中污染的抗生素。在澳洲北部、古巴、巴西及墨西哥都已發現埃及斑蚊在地下水源中發育。地下水源包括水井、下水道、檢修孔、坑洞、雨水排水溝及廚房污水坑，甚至化糞池也成為埃及斑蚊發育的重要場所。這些孳生源也是潛在累積抗生素的污染源。估計全球淡水受四環黴素污染的平均濃度是每升 1.4 微克，中國農業排放水污染河水的四環黴素濃度高達每升 68.9 微克。英美澳等國處理過的飲用水含四環黴素的濃度低於每升 0.05 微克，但環境中動物廢棄物儲存池的四環黴素含量可高達每升 1000 微克。實驗研究發現會影響沃爾巴克氏菌的濃度是每升 5 至 50 微克，而要完全清除埃及斑蚊內的沃爾巴克氏菌，所需的四環黴素濃度高達每升 1 至 5 克。

如果埃及斑蚊卵在抗生素污染的水源孵化，幼蟲在發育過程中曝露於抗生素如四環黴素，可能將帶有的沃爾巴克氏菌殺死或降低沃爾巴克氏菌的感染能力，而無法建立沃爾巴克氏菌埃及斑蚊族群。因此，在決定釋放沃爾巴克氏菌埃及斑蚊的地點時，必須考慮埃及斑蚊在地下水及化糞池繁殖的可能性。而且必須謹慎選擇所用的沃爾巴克氏菌株，即使會因四環黴素降低蚊媒細胞內沃爾巴克氏菌密度，但沃爾巴克氏菌仍具有細胞質不相容作用，如此才能最大限度地維持登革熱防治計劃的穩定性。

◎演化對沃爾巴克氏菌作為登革熱生物防治工具的影響

沃爾巴克氏菌提供長期保護作用對抗登革病毒的能力是否可能因沃爾巴克氏菌株、埃及斑蚊及登革病毒三者間的演化而逐漸削弱，是必須關注的議題³³。沃爾巴克氏菌與埃及斑蚊共同演化的變化 (co-evolutionary changes) 可能會影響登革病毒的傳播 (表五)。隨著時間的推移，宿主 (埃及斑蚊) 將適應成本極小化，共同演化造成宿主細胞內的沃爾巴克氏菌密度降低，或沃爾巴克氏菌在宿主組織的分佈只侷限於卵巢及睪丸，因而降低阻斷病毒傳播的作用。埃及斑蚊感染沃爾巴克氏菌最不利的代價是蚊卵在靜止後 (乾燥儲存) 的孵化率降低，且雌蚊的生育力下降。這些性狀的選擇可能專門作用於卵巢與胚胎，而可能不會對與登革病毒複製及傳播有關的組織如中腸與唾液腺產生影響。然而，埃及斑蚊因感染沃爾巴克氏菌而適應力降低的機制及其與抑制病毒的關係需要進一步探討¹⁹。

將帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊在野外釋放後數年間，從未發現宿主細胞內沃爾巴克氏菌的密度降低或抑制病毒傳播的能力消失。wMel 沃爾巴克氏菌株基因體演化的速度比其自然宿主黑腹果蠅的粒線基因體體還慢，而且從澳洲釋放 wMel 沃爾巴克氏菌埃及斑蚊後 2 至 8 年間，從釋放區收集 wMel 沃爾巴克氏菌埃及斑蚊的樣本檢測分析，罕有基因多形性出現。這些結果顯示 wMel 沃爾巴克氏菌基因體在埃及斑蚊非常穩定，其抑制登革病毒複製的能力並未改變。然而，埃及斑蚊基因體的演化是否可能減弱 wMel 沃爾巴克氏菌抑制病毒複製作用？在使用不同育種的 wMel 沃爾巴克氏菌埃及斑蚊研究中，發現登革病毒含量多寡與埃及斑蚊基因體的變異有關，但對病毒感染抗性較差的埃及斑蚊對環境的適應力也較差，容易被淘汰，不太可能在野外適應存活。

沃爾巴克氏菌與埃及斑蚊的穩定關係在澳洲（使用 wMel 沃爾巴克氏菌）與馬來西亞（使用 wAlbB 沃爾巴克氏菌）的田野釋放計劃中得到證實，wMel 與 wAlbB 沃爾巴克氏菌都成功地滲入當地的埃及斑蚊族群。在釋放 wMel 後長達 10 年的追蹤期間，wMel 從黑腹果蠅轉染到埃及斑蚊，繁殖已歷經約有 120 代，發現釋放區的埃及斑蚊族群仍維持高頻率帶有 wMel 沃爾巴克氏菌，且保有抗病毒複製的能力。這些研究的結果顯示沃爾巴克氏菌與埃及斑蚊的關係，不可能發生快速演化而降低其在田野滲入族群的作用³⁴。

與沃爾巴克氏菌及埃及斑蚊不同，核醣核酸病毒如登革病毒具有快速的突變率，病毒基因體累積的突變可在帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊內複製並迅速被選擇出來。如果這些突變病毒能在人體存活，就可能維持在帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊族群中。因此，帶有 wMel 或 wAlbB 沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊對突變的病毒是否仍有抗病毒作用是需要回答的問題。

◎ 抗沃爾巴克氏菌之登革病毒突變株在埃及斑蚊體內如何出現及被選擇

沃爾巴克氏菌有效的抗病毒作用取決於兩個重要因素：埃及斑蚊唾液腺產生感染性登革病毒的族群是否減少，以及蚊子從吸血到唾液腺出現感染性登革病毒所需的時間是否拉長，如果回答都是，才可能在蚊子有生之日降低叮咬吸血傳播登革熱的風險。然而，沃爾巴克氏菌抑制病毒複製並不完全，以至於仍有一些蚊子還具有感染性的登革病毒，例如，帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊在叮咬登革病毒血症的病人後，在超過 50% 蚊子的中腸及約有 10% 蚊子的唾液腺中可檢測出具有感染性的登革病毒。從蚊子族群的觀點看，wMel 沃爾巴克氏菌株在

登革熱高度傳染疫區的滲入作用並無法永久性將登革熱清除。就四種血清型登革病毒而言，與第二、三、四型登革病毒比較，第一型登革病毒被 wMel 沃爾巴克氏菌株抑制的程度是微乎其微的。由此可知，病毒複製持續的存在與傳播，可使病毒對沃爾巴克氏菌產生抗性，出現的病毒突變株可在壓力選擇下存活。

◎ 病毒抗沃爾巴克氏菌的形成過程

研究發現攜帶有沃爾巴克氏菌的細胞才能保護細胞免於病毒感染，此現象類似超感染排他作用，細胞有沃爾巴克氏菌感染可以防止產生具有傳染性的病毒，沒有沃爾巴克氏菌感染的細胞無法抑制病毒複製。蚊子從有病毒血症的病人吸血後，登革病毒在埃及斑蚊的中腸複製繁殖，病毒必須越過中腸障礙，經由血淋巴循環擴散，感染其他組織細胞，在吸血後 7 天左右抵達唾液腺。一旦病毒進入蚊子唾液腺，下次再吸血時，就會把病毒傳給新宿主（病人）。咸信蚊子吸血時只有少量的傳染性病毒進入中腸，病毒數量少的現象是一種族群瓶頸 (population bottleneck) 效應，會減少傳染性病毒族群基因的歧異性，如此可以使原本已存在的低頻率抗沃爾巴克氏菌的登革變異病毒被濾除掉，不會在下次吸血時傳播出去。

登革病毒基因複製時沒有校對能力，因此，登革病毒在蚊子中腸複製繁殖會產生變異。抗沃爾巴克氏菌產生登革病毒變異株有 4 個潛在路徑（圖一）。這些病毒變異株如果缺乏競爭適應力或在中腸及血淋巴液中易受免疫攻擊，就無法跨越中腸屏障擴散到其他組織細胞。但如果在中腸產生抗沃爾巴克氏菌的登革變異病毒能適應下來，此變異病毒就比野生型病毒具有選擇優勢而存活，變異病毒不僅可以感染帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊，也可以感染不帶有沃爾巴克氏菌

的埃及斑蚊。然而，抗沃爾巴克氏菌的登革變異病毒如果無法在人類宿主適應，變異病毒也無法傳播下去。此適應平衡 (fitness trade-offs) 現象顯示：變異病毒在第一種宿主（例如蚊子）增加的適應力，被在第二種宿主（例如人類）失去的適應力打消。如果變異病毒能感染人類宿主，新型的病毒感染於是產生³³。

上述的適應平衡現象與族群瓶頸效應造成淨化選擇 (purifying selection) 或稱負向選擇 (negative selection)，在淨化選擇中，將有害的基因淘汰，即所謂同義突變 (synonymous mutations)，因此登革病毒變異並未造成胺基酸的改變，比非同義突變 (nonsynonymous mutations) 容易保留下來，因為非同義突變是轉譯造成胺基酸改變，影響蛋白質的穩定性、功能及病毒複製。

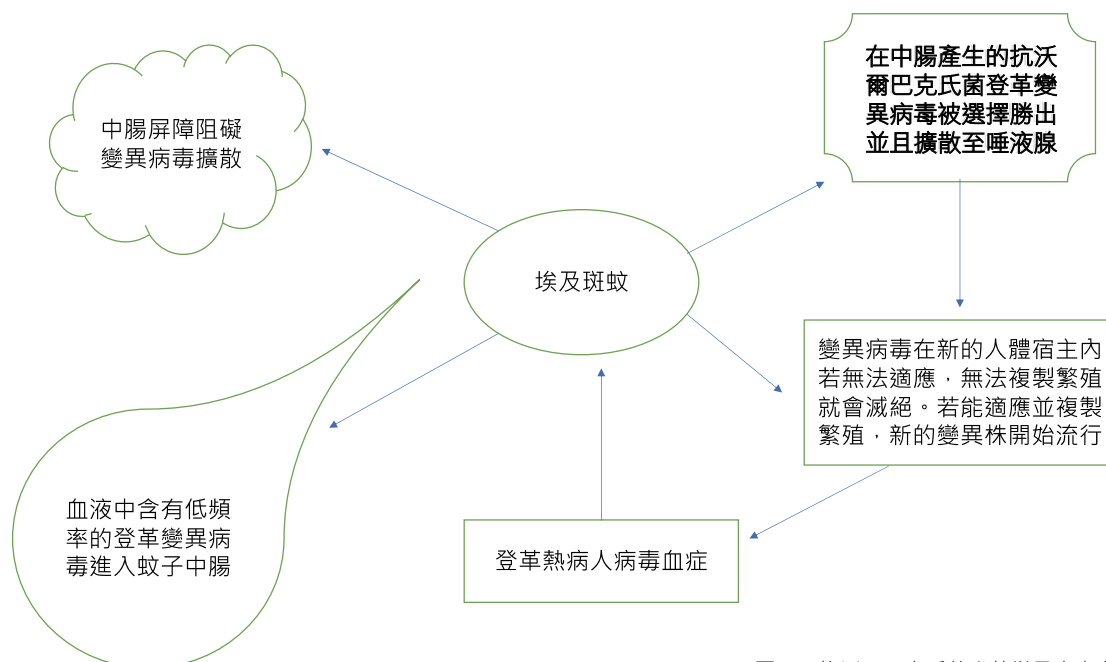
雖然淨化選擇可以減慢抗沃爾巴克氏菌登革病毒變異株的出現，但可能無法清除變異病毒。隨著時間變化，抗沃爾巴克氏菌的登革病毒變異會累積，最後在病毒傳播循

環中居主導地位。因為蚊子族群龐大且對登革病毒感染的感受性是高低不定的，在釋放帶有沃爾巴克氏菌埃及斑蚊的地區應該密切監測登革病毒的演化。

◎抗沃爾巴克氏菌登革病毒的檢測與處理

如果登革病毒變異株能在帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊適應下來，就有可能立足於病毒傳播循環中。那我們如何確認，如何減輕影響？例如印尼的日惹市，在釋放沃爾巴克氏菌埃及斑蚊的地區，沃爾巴克氏菌已經滲入當地埃及斑蚊族群，無本土病例發生。如果當地發現本土登革熱傳播鏈持續存在，就應該懷疑有抗沃爾巴克氏菌的登革病毒變異株出現。因為沃爾巴克氏菌失去對登革病毒複製的抑制能力可能與病毒、沃爾巴克氏菌及埃及斑蚊三者任何一方有關，必須探討傳播鏈潛在的原因³³。

在假設抗沃爾巴克氏菌的登革病毒變異株已成功演化前，必須先確認不是因為在埃及斑蚊族群中沃爾巴克氏菌的密度或頻率降低的關係，例如是受氣候高溫的影響。也



圖一：抗沃爾巴克氏菌登革變異病毒產生的機制

要排除埃及斑蚊或沃爾巴克氏菌株的適應問題，可能讓埃及斑蚊族群更容易感染登革病毒。回答這個問題的解決辦法是：捕捉當地野生帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊，餵食實驗室培養的先前已證明能被沃爾巴克氏菌抑制的登革病毒。如果實驗室培養的登革病毒複製仍受到抑制，表示沃爾巴克氏菌和埃及斑蚊沒有問題，換句話說，登革病毒變異株可能存在。

反之，可將當地流行的病毒株感染實驗室飼養的沃爾巴克氏菌埃及斑蚊，檢測當地流行的病毒株在實驗室飼養蚊子的複製及傳播能力。與先前已知可被沃爾巴克氏菌抑制的病毒株做比較，結果可知在社區流行的病毒基因型是否較能克服沃爾巴克氏菌的抑制作用。在爆發流行期間，將在人體及蚊子分離出的流行病毒株加以基因定序，與最近已

發表的病毒基因定序比對，可知導致病毒變異的基因變化。

面對抗沃爾巴克氏菌登革病毒變異株的出現，應對策略之一是不改變既有的蚊媒族群，因為帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊不可能比野生埃及斑蚊更容易被登革病毒感染。一開始，可能只出現一種登革病毒基因型對 wMel 或 wAlbB 沃爾巴克氏菌株有抗性，沃爾巴克氏菌株對其他基因型 / 血清型的登革病毒仍有抑制作用。變異病毒株可能隨著時間推移而變成主流，在此情況下，再行介入可能會有所幫助。另一種策略是釋放攜帶生殖不相容的沃爾巴克氏菌埃及斑蚊以去除或取代現存的沃爾巴克氏菌株，直至病毒變異株不再擴展到所有沃爾巴克氏菌株。應對病毒變異也可以使用其他配套方法如疫苗或基因驅動及族群壓制的病媒防治策略。

表五：沃爾巴克氏菌蚊子與病毒的演化預測

| 共同演化 | 蚊子短壽 | 族群壓制 | 阻斷病毒 |
|------|-------------------------------|--|---|
| 病毒傳播 | 登革病毒無法完成複製，無法傳播。 | 蚊媒族群消失或數量減少，降低病毒傳播風險。 | 感染病毒但無法傳播病毒。 |
| 物競天擇 | 淘汰短壽沃爾巴克氏菌蚊子，長壽雌蚊被選擇而存活。 | 雌蚊在沃爾巴克氏菌殺戮下存活，雌蚊避免與帶有沃爾巴克氏菌的雄蚊交配。 | 病毒逃脫抑制，但沃爾巴克氏菌不會明顯地被選擇以維持對病毒的抑制。 |
| 基因變異 | 沃爾巴克氏菌株變異。登革病毒可能加快完成複製，但降低傳播。 | 沃爾巴克氏菌株在果蠅出現抗細胞質不相容，基因無明顯持久的變異。 | 未知。 |
| 目前進化 | 沃爾巴克氏菌密度降低 | 短期內，野生果蠅未出現壓制細胞質不容，但長期而言，會發生。 | 沃爾巴克氏菌感染的蚊子可傳播許多人類致病病毒，但會降低病毒傳播。 |
| 未來預測 | 蚊子短壽減緩，登革病毒加快完成複製，但降低傳播。 | 族群抑制還可維持十幾年有效，但會因意外釋出帶菌雌蚊而失效。連續釋放以維持族群壓制的經濟代價高，是不可持續的。 | 登革病毒演化可降低沃爾巴克氏菌的完全阻斷作用，但對登革病毒的部份阻斷作用仍會永久持續存在。 |

◎ 結論

應用沃爾巴克氏菌感染埃及斑蚊預防登革熱的世界蚊子計劃已實施超過 10 年，在全球許多登革熱疫區的防治結果令人鼓舞。社區積極參與和多領域團隊的合作是確保該計劃的有效性和良好成果的重要因素。帶有沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊不是基因改造的蚊子，沃爾巴克氏菌和埃及斑蚊的遺傳物質沒有改變。沃爾巴克氏菌不會感染人類，也不會向其他物種做水平傳播，不會污染環境，感染沃爾巴克氏菌的埃及斑蚊可稱為「減少登革熱傳播的善良蚊子」。與登革病毒相比，沃爾巴克氏菌和埃及斑蚊的演化速度慢多了，迄今為止，在釋放 wMel 沃爾巴克氏菌株多年後，分析從釋放區收集的 wMel 沃爾巴克氏菌埃及斑蚊，顯示仍保有抗病毒複製的能力。病毒、細菌和蚊子三者之間的關係複雜，雖然目前還沒有發現抗沃爾巴克氏菌的登革病毒變異株，但核糖核酸病毒快速突變的特性，顯示登革病毒終究會適應沃爾巴克氏菌的選擇壓力而產生突變，這是無法避免的，問題是時間要多久，何時發生？因此，監測沃爾巴克氏菌密度及其感染頻率，監控抗沃爾巴克氏菌登革病毒變異株的出現是這類防治計劃重要的一部份。



參考文獻

- Guzman, M.G., (2010). Dengue: A continuing global threat. *Nature Reviews Microbiology*, 8(Suppl 12), S7-S16, <https://doi.org/10.1038/nrmicro2460>
- Yang, X., et al. (2021). Global burden for dengue and the evolving pattern in the past 30 years. *Journal of Travel Medicine*, 28(8), 1-11, <https://doi.org/10.1093/jtm/taab146>
- Kularatne, S.A., & Dalugama, C. (2022). Dengue infection: Global importance, immunopathology and management. *Clinical Medicine (London)*, 22(1), 9-13, <https://doi.org/10.7861/clinmed.2021-0791>
- Wang, G.H., et al. (2022). Symbionts and gene drive: Two strategies to combat vector-borne disease. *Trends in Genetics*, 38(7), 708-723, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2022.02.013>
- Minwuyet, et al. (2023). Symbiotic Wolbachia in mosquitoes and its role in reducing the transmission of mosquito-borne diseases: Updates and prospects. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1267832, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1267832>
- Buchori, D., et al. (2022). Risk assessment on the release of Wolbachia-infected *Aedes aegypti* in Yogyakarta, Indonesia. *Insects*, 13, 924, <https://doi.org/10.3390/insects13100924>
- Hoffmann, A.A., et al. (2024). Introduction of *Aedes aegypti* mosquitoes carrying wAlbB Wolbachia sharply decreases dengue incidence in disease hotspots. *iScience*, 27, 108942, <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.108942>
- Ogunlade, S.T., et al. (2023). Quantifying the impact of Wolbachia releases on dengue infection in Townsville, Australia. *Scientific Reports*, 13, 14932, <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42336-2>
- Utarini, A., et al. (2021). Efficacy of Wolbachia-infected mosquito deployments for the control of dengue. *New England Journal of Medicine*, 384, 2177-2186, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2030243>
- Warren, S., et al. (1954). Simeon Burt Wolbach, 3rd July 1880 – 19th March 1954. *Journal of Pathology and Bacteriology*, 68(2), 656-657, <https://doi.org/10.1002/path.1700680246>
- Goryacheva, I.I., & Andrianov, B.V. (2015). Biological effects of *Wolbachia pipientis*: Elucidation of genetic mechanisms. *Biology Bulletin Reviews*, 5, 109-118, <https://doi.org/10.1134/S207908641502005X>
- Kaur, R., et al. (2021). Living in the endosymbiotic world of Wolbachia: A centennial review. *Cell Host & Microbe*, 29, 879-893, <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.03.006>
- Inacio da Silva, L.M., et al. (2021). Systematic review of Wolbachia detection in mosquitoes: An entangled topic about methodological power and true symbiosis. *Pathogens*, 10, 39, <https://doi.org/10.3390/pathogens10010039>
- Ross, P.A., et al. (2020). An elusive endosymbiont: Does Wolbachia occur naturally in *Aedes aegypti*? *Ecology and Evolution*, 10, 1581-1591, <https://doi.org/10.1002/ece3.6012>
- Zhang, H.D., et al. (2022). Wolbachia infection in field-collected *Aedes aegypti* in Yunnan Province, southwestern China. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1082809, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1082809>

16. Muharromah, A.F., et al. (2023). Genome-wide detection of *Wolbachia* in natural *Aedes aegypti* populations using ddRAD-Seq. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1252656, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1252656>
17. Reyes, J.I.L., et al. (2024). Detection and quantification of natural *Wolbachia* in *Aedes aegypti* in metropolitan Manila, Philippines using locally designed primers. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1360438, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1360438>
18. Ruiz, A., et al. (2023). First report of natural *Wolbachia* infections in mosquitoes from Cuba. *Acta Tropica*, 242, 106891, <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2023.106891>
19. Ant, T.H., et al. (2023). *Wolbachia*-virus interactions and arbovirus control through population replacement in mosquitoes. *Pathogens and Global Health*, 117(3), 245-258, <https://doi.org/10.1080/20477724.2022.2117939>
20. Moreira, L.A., et al. (2009). Human probing behaviour of *Aedes aegypti* when infected with a life-shortening strain of *Wolbachia*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 3(12), e568, <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000568>
21. Dainty, K.R., et al. (2021). wMel *Wolbachia* genome remains stable after 7 years in Australian *Aedes aegypti* field populations. *Microbial Genomics*, 7(9), 000641, <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000641>
22. Simmons, C.P., et al. (2024). Successful introgression of wMel *Wolbachia* into *Aedes aegypti* populations in Fiji, Vanuatu and Kiribati. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 18(3), e0012022, <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012022>
23. Ryan, P.A., et al. (2019). Establishment of wMel *Wolbachia* in *Aedes aegypti* mosquitoes and reduction of local dengue transmission in Cairns and surrounding locations in northern Queensland, Australia. *Gates Open Research*, 3, 1547, <https://doi.org/10.12688/gatesopenres.13061.1>
24. Lim, J.T., et al. (2024). Efficacy of *Wolbachia*-mediated sterility to reduce the incidence of dengue: A synthetic control study in Singapore. *Lancet Microbe*, [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(23\)00397-X](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(23)00397-X)
25. Velez, I.D., et al. (2023). Reduced dengue incidence following city-wide wMel *Wolbachia* mosquito releases throughout three Colombian cities: Interrupted time series analysis and a prospective case-control study. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 17(11), e0011713, <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011713>
26. Gesto, J.S.M., et al. (2021). Large-scale deployment and establishment of *Wolbachia* into the *Aedes aegypti* population in Rio de Janeiro, Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 12, 711107, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.711107>
27. Ribeiro dos Santos, G., et al. (2022). Estimating the effect of the wMel release programme on the incidence of dengue and chikungunya in Rio de Janeiro, Brazil: A spatiotemporal modelling study. *Lancet Infectious Diseases*, 22, 1587-1595, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00436-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00436-4)
28. Pavan, M.G., et al. (2023). The double-edged sword effect of expanding *Wolbachia* deployment in dengue endemic settings. *The Lancet Regional Health – Americas*, 27, 100610, <https://doi.org/10.1016/j.lana.2023.100610>
29. Caragata, E.P., et al. (2016). Exploiting intimate relationships: Controlling mosquito-transmitted disease with *Wolbachia*. *Trends in Parasitology*, 32(3), 207-218, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2015.10.011>
30. Padde, J.R., et al. (2023). The impact of environmental and host factors on *Wolbachia* density and efficacy as a biological tool. *Decoding Infection and Transmission*, 1, 100006, <https://doi.org/10.1016/j.dcit.2023.100006>
31. Vasquez, V.N., et al. (2024). wMel replacement of dengue-competent mosquitoes is robust to near-term climate change. *Nature Climate Change*, 14(1), 106, <https://doi.org/10.1038/s41558-023-01797-z>
32. Endersby-Harshman, N.M., et al. (2019). Environmental concentrations of antibiotics may diminish *Wolbachia* infections in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 56(4), 1078-1086, <https://doi.org/10.1093/jme/tjz023>
33. Edenborough, K.M., et al. (2021). Using *Wolbachia* to eliminate dengue: Will the virus fight back? *Journal of Virology*, 95(13), e02203-20, <https://doi.org/10.1128/JVI.02203-20>
34. Ross, P.A., et al. (2022). A decade of stability for wMel *Wolbachia* in natural *Aedes aegypti* populations. *PLOS Pathogens*, 18(2), e1010256, <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010256>



作者

蕭孟芳醫師

陽明大學醫學院熱帶醫學研究所教授

國防醫學院預防醫學研究所教授兼所長

國防醫學院醫學醫學系熱帶醫學及寄生蟲學科教授兼主任

國防醫學院醫學系

英國倫敦大學衛生及熱帶醫學院臨床熱帶醫學碩士

英國倫敦大學衛生及熱帶醫學院感染症免疫學哲學博士