

國立臺灣大學醫學院臨床醫學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Clinical Medicine

College of Medicine

National Taiwan University

Master Thesis

台灣偏遠地區居民及原住民 B 型肝炎之研究

Investigation of Hepatitis B in

Residents of Rural Areas and Aborigines in Taiwan

粘曉菁

Hsiao-Ching Nien

指導教授：許金川 教授 (Professor Jin-Chuan Sheu)

高嘉宏 教授 (Professor Jia-Horng Kao)

中華民國 九十九年二月

February, 2010

國立臺灣大學碩士學位論文  
口試委員會審定書

台灣偏遠地區居民及原住民 B 型肝炎之研究

Investigation of Hepatitis B in  
Residents of Rural Areas and Aborigines in Taiwan

本論文係粘曉菁君 (P96421007) 在國立臺灣大學醫學院臨床醫學研究所完成之碩士學位論文，於民國九十八年十二月三十一日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

許金川

高嘉宏 (簽名)

吳肇卿 (指導教授)

2

莊青龍

3 張大智

系主任、所長

高嘉宏

(簽名)

## 致謝

國學大師王國維在其著作「人間詞話」中提及：「古今之成大事業大學問者，必經三種之境界：『昨夜西風凋蔽樹，獨上高樓，望盡天涯路』，此第一境也；『衣帶漸寬終不悔，為伊消得人憔悴』，此第二境也；『眾裡尋他千百度，驀然回首，那人正在燈火闌珊處。』，此第三境也。」這段話深深地闡述我念研究所的甘苦心情。

每到半夜眾人皆「睡」我獨醒，想著研究論文的種種，不孤獨都不行了，但沉浸其中所帶給我的樂趣卻是無價的，因為唯有在這大腦用力思考的時刻，讓我覺得我仍存在。成長總是痛苦的，因研究憔悴而消瘦在所難免，但完成一份論文時滿心的成就感，早已彌補了疲倦的心。

有如此深刻研究學習的人生體會，首要感謝許金川教授。您總在我游移不定幾度想放棄學術研究的瓶頸時，感謝您拉了學生一把，給予我豐富的人生引導與鼓勵，並提供我廣大的研究資源，讓我有勇氣繼續前進。智者如您、伯樂如您，期望我能不負您的栽培成為千里馬。

實驗室一直是我恐懼的地方，但研究怎能不進實驗室？在此特要感謝高嘉宏教授，讓我有難得的實驗室研究經驗，並適時給予我正確的研究方向與指導。偶而您短短的一句話，雖然不帶有絲點責罵，但總讓心虛的我內心慚愧萬分，勉勵自己對研究應該再更加地投入，感謝有您如此溫柔提攜的原動力才能使我在研究路上走的更穩健。

此外，另一股推動我繼續研究的力量，誠心感謝陳健弘副教授的細心指導，不論研究或工作上給予我多次的 CPR 急救服務與關心，讓思緒困頓且迷惘的小妹能找到有一條明亮的道路，這份恩情銘記於心。

緊張的口試過程中，有幸讓陽明臨床醫學研究所所長吳肇卿教授、高醫肝膽胰內科主任莊萬龍教授、台大小兒科張美惠教授及兩位指導教授們共同細心指

導，精闢的建議得以讓本研究更有深度與價值。再者，更感激諸位口試教授們與陳培哲教授的鼓勵與肯定，讓我更有信心繼續努力往學術之路邁進。

研究路上能擁有如此豐富的社會資源，最要感謝財團法人肝病防治學術基金會與宋瑞樓教授、黃冠棠教授、楊培銘教授與李宣書教授等熱忱幫助，發揮公益助人的使命募集社會的愛心，在照顧偏遠地區肝苦人之餘，也造就了難得的學術發現。其中特別感謝黃婉瓊總監與其所帶領的基金會所有同仁們與龐大的義工朋友們，還有走在公衛與醫療照護最前線且動員力超強的衛生醫療單位長官們與其同仁們（台大醫院雲林分院院長黃世傑、屏東縣縣長曹啟鴻及衛生局長康啟杰等、台東縣前衛生局長呂喬洋、連江縣衛生局長劉增應、桃園縣前衛生局長林雪蓉、南投縣衛生局長廖龍仁、埔里基督教醫院李智貴醫師、宜蘭縣衛生局長劉宜廉、羅東博愛醫院許博文醫師及王朝欣顧問、嘉義縣前縣長陳明文及衛生局長鍾明昌等與其所屬團隊工作同仁們；台東所有鄉鎮、屏東縣三地門鄉、車城鄉、恆春鄉、牡丹鄉、獅子鄉、琉球鄉及高樹鄉衛生所、連江縣所有鄉鎮、南投縣信義鄉及仁愛鄉、宜蘭縣南澳鄉及大同鄉、台北縣烏來鄉、桃園縣復興鄉、苗栗縣泰安縣及大湖鄉、花蓮縣秀林鄉及萬榮鄉及卓溪鄉、嘉義縣阿里山鄉衛生所、澎湖縣湖西鄉及馬公鄉及白沙鄉等衛生所長官與工作同仁們）的熱心指導與協助，大家捨棄假日不辭辛勞地翻山越嶺、爬山涉水，一同努力捍衛國人的健康，才能共同完成這樣艱難的研究。

然而實驗能得以順利進行，在此萬分感謝周慧琦博士不厭其煩的教導，劉俊人副教授與研究助理陳亭之的熱心協助，王弘毅助理教授在基因體方面的幫忙，實驗室同仁們許貴銀、蘇建文、黃俞榮、Zachary Yu-Ching Lin、王紫珊等在實驗操作過程的指導與協助。對於處理研究結果如此龐大的資料庫，更要深深感謝好友祝瑞霜、劉美容與陳韶欣給予我統計上莫大的幫忙。而最後重要的文稿潤飾，特要感謝好友曾鈺珊、林孟伶、鄭純宜及劉玉娟的拔刀相助。

語言學上學術地位崇高的台大語言學研究所黃宣範教授，對您也致上我最誠摯的謝意，在不曾謀面之下，有幸經由台大歷史系傑出校友喻芝蘭介紹，得以向黃教授請教南島語族的歷史淵源，多謝您熱心的教導才能讓我的眼界更為寬廣。

這一路走來，承蒙如父亦師的台大醫院家庭醫學部兼北海岸金山醫院院長李龍騰教授厚愛，除了待人處世的教導之外，也讓我更精進社區基層醫學與流行病學的知識，才得以有能力完成本論文的研究。此外，萬分感激台大醫院家庭醫學部陳慶餘教授、邱泰源教授、黃國晉教授、梁繼權教授、李宇芬醫師、陳晶瑩醫師與程劭儀醫師等人栽培與關愛，給了我人生中第二個「家」；也感謝台大流行病學研究所于明暉教授、台大公共衛生學系丁志音副教授等指導，更讓我能重溫公共衛生學院的懷抱；還有默默關心並鼓勵我的高醫皮膚科鄭詩宗醫師、高醫胸腔內科王東衡醫師與北一女中陳壽美老師，因為有您們的指引，才能讓我在課業與工作上，獲得人生中難能可貴的歷練與成長。

家庭對我而言，的確是一個名符其實的「甜蜜的負擔」，人生路上感謝老公博仁、外公與往生的外婆、爸爸、媽媽、公公、婆婆、小阿姨及其全家、兩個心肝小寶貝（傑愉與奇衡）、弟弟、亮儂、親嬌阿姨與蔡雄阿伯、軒儀、惠蘭、江敏、毛毛、凌鈺、琬華、賢政、孟慈、滿祥師父等親朋好友對我的照顧、關愛、包容與支持，沒有你們就無法成就今日的我，謹將我所有的榮耀與你們一同分享！

能有此榮幸完成本研究，需致謝者實在太多太多！最後，特要感謝政府機構、統一超商及全國愛心人士與企業團體的捐助，只因有你們的愛心，讓我們更提昇付出的動力與使命感，繼續去照顧所有台灣的「肝苦人」。再者，更感謝研究中來自於台灣各個角落的每一位國人的貢獻，因為有你們的付出，才得以讓醫學研究更加進步與發展。

謹將本文成果獻予 ~財團法人肝病防治學術基金會~

曉菁 民國 99 年 02 月 03 日誌於台北

## 中文摘要

### 一、 研究背景及目的

B 型肝炎是台灣引起肝癌的最主要原因，然而根據統計，台灣原住民之慢性肝病及肝硬化死亡率雖然遠高於非原住民族群，但肝癌死亡率卻略低於非原住民。此外，偏遠地區之肝癌存活率也較一般都會地區為低。台灣 B 型肝炎病毒基因型主要為 B 型及 C 型，其中基因型 B 盛行率高達 80%，一但隨著肝炎、肝硬化及肝癌的進展，基因型 B 型之盛行率也逐漸下降；另外，B 型肝炎之病毒量偏高與 e 抗原陽性者，其未來罹患肝癌風險也較高。本研究以台灣偏遠地區居民及原住民為對象，探討一般社區族群之 B 型肝炎患者，其影響未來罹患肝癌之因子與病毒基因型分佈，是否存在地區性與不同族群間之差異。

### 二、 研究方法

針對台灣偏遠地區成年 B 型肝炎患者，進行基本資料收集、問卷、抽血檢查（包括：AST、ALT、AFP、e 抗原及抗體、病毒量、基因型）及腹部超音波檢查。以即時聚合酶鏈反應法（Real-Time polymerase chain reaction）技術先進行 B 型肝炎病毒量（HBV DNA level）檢測，以巢式聚合酶鏈反應法(nested polymerase chain reaction) 和多重聚合酶鏈鎖反應（multiplex-polymerase chain reaction）技術檢定病毒基因型，再來分析病毒全長基因體定序以確定基因型之正確性。最後以不同的統計方法分析所收集之資料結果。

### 三、 研究結果

研究中招募 3,488 位（1,527 位原住民與 1,961 位非原住民）來自台灣各地偏遠社區的 B 型肝炎患者，原住民相較於非原住民族群之下，兩者平均年齡約 50 歲且平均 ALT 為 39 U/L，統計上並無明顯差異；而統計上顯著發現者為：其 e 抗原

陽性率較低 (5.3% vs. 10.2%,  $p$ -value<0.0001)、HBV DNA>2,000 IU/ml 比率也較低 (27.4% vs. 36.7%,  $p$ -value<0.0001)、有經常飲酒習慣者比率則較高 (40.0% vs. 19.3%,  $p$ -value<0.0001)。取其中有基因型分析結果之 1,178 人，發現任何年齡層之原住民基因型 B/C 盛行率皆偏高 (92.7% vs. 72.7%,  $p$ -value<0.05) 且以鄒族語系與排灣語系為最高 (97%)。而離島地區 (澎湖縣與連江縣) 非原住民的 B 型肝炎患者以基因型 C 為主 (60%)，本島地區以基因型 B 為主 (89%)。此外，研究中發現 13 位在台灣相當罕見的基因型 D，主要集中於屏東縣，以當地排灣族居多，其病毒量較高 (HBV DNA >2,000 IU/ml)，且問卷資料顯示雖有部分病患曾經接受輸血、開刀、刺青或穿體洞，但無人曾共用針頭。

#### 四、 結論

本研究發現影響罹患肝癌風險的因子，如：B 型肝炎病毒之病毒量、e 抗原陽性率及基因型 C 盛行率等，屬於南島語族的原住民都較非原住民族群為低。由此可知 B 型肝炎並非主要造成原住民慢性肝病死亡率較高的原因，可能是酒精性肝炎或其他原因所導致。另外，某些地區群聚台灣較為罕見之 B 型肝炎病毒基因型 D，其感染途徑與傳播方式，未來都值得進一步研究與調查。

**關鍵詞：** 台灣偏遠地區、原住民、B 型肝炎、基因型、病毒量、e 抗原陽性率、南島語族

## 英文摘要

### *Background:*

Hepatitis B virus (HBV) infection is the major cause of hepatocellular carcinoma (HCC) in Taiwan. The standardized mortality rates of chronic liver diseases and liver cirrhosis are higher in Taiwanese aborigines than non-aborigines. However, the standardized mortality rate of HCC is slightly lower in Taiwanese aborigines. High HBV DNA, positive HBeAg and genotype C have been shown to be the risks for the HBV-related HCC. Therefore, in this study we further investigated the distributions of HCC related risk factors in HBV patients and HBV genotype among different regional areas and ethnic groups.

### *Materials and methods:*

A total of 3,488 patients (1,527 aborigines and 1,961 non-aborigines) with HBV infection were recruited from various regions in Taiwan. Basic background information and blood samples were collected and abdominal ultrasound examinations were done. The blood samples were checked for AST, ALT, AFP, HBeAg, anti-HBe, HBV DNA by Real-Time PCR (polymerase chain reaction, PCR) and genotype by nested PCR

(nested polymerase chain reaction) and multiplex-PCR (multiplex-polymerase chain reaction). The accuracy of HBV genotypes was validated with full length sequence.

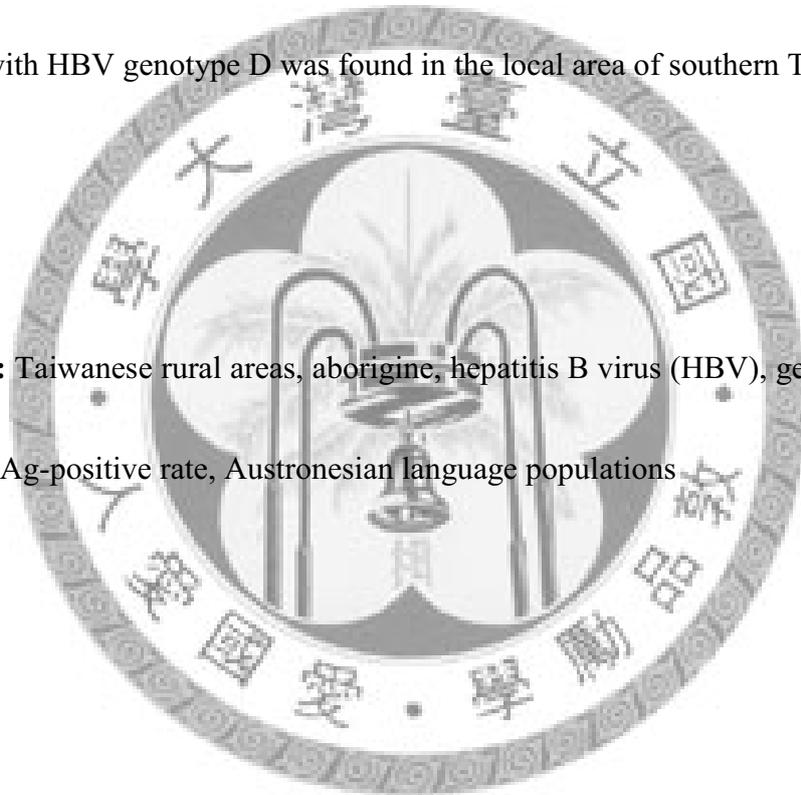
*Results:*

There were no differences in the mean age (50 years old) and mean ALT levels (39 U/L) between aborigines and non-aborigines. However, lower HBeAg-positive rate (5.3% vs. 10.2%,  $p < 0.0001$ ), lower rate of HBV DNA  $> 2,000$  IU/ml (27.4% vs. 36.7%,  $p < 0.0001$ ), higher rate of drinking habit (40.0% vs. 19.3%,  $p < 0.0001$ ) were noted in aborigines than non-aborigines. Among 1,178 patients with complete data of genotype and HBeAg, the prevalence of genotype B in aborigine group was higher (92.7%) than that in non-aborigine group (72.7%) in any age group ( $p < 0.05$ ), especially in Tsou (97%). The dominant genotype was C in non-aborigines in Penghu County and Lienchiang County (60%) and was genotype B in the countries of Taiwan island (89%). Besides, our research found 13 patients with genotype D, a very rare genotype in Taiwan. Patients with genotype D were clustered in the local Paiwan tribe of Pingtung County. These subjects had higher HBV DNA (greater than 2,000 IU/ml) without the experience of sharing needles with others and some of them had received blood transfusion or surgeries or tattoo or piercings.

*Conclusion:*

We found Taiwanese aborigines who belong to Austronesian language populations have lower HBV DNA viral load, lower HBeAg-positive rate and higher prevalence of HBV genotype B when compared with non-aborigines. Therefore, HBV infection is not the major cause of the death of chronic liver diseases in Taiwanese aborigines. A cluster of patients with HBV genotype D was found in the local area of southern Taiwan.

**Key Words:** Taiwanese rural areas, aborigine, hepatitis B virus (HBV), genotype, HBV DNA, HBeAg-positive rate, Austronesian language populations



# 目 錄

口試委員會審定書 .....	i
誌謝 .....	ii
中文摘要 .....	v
英文摘要 .....	vii
目錄 .....	x
圖目錄 .....	xii
表目錄及附件.....	xiii
緒論.....	1
第一章:背景及詳細的文獻回顧 .....	1
第一節:台灣B型肝炎在非原住民與原住民的角色.....	1
第二節:B型肝炎病毒介紹.....	2
第三節:B型肝炎病毒之基因型分佈與其相關病況.....	3
第四節:台灣地區之族群簡介.....	5
第二章、欲研究的問題及其重要性 .....	7
第一節:偏遠地區及原住民B型肝炎患者概況 .....	7
第二節:B型肝炎病毒之基因型於不同族群之分佈.....	8
第三章、研究的假說與特定目的 .....	9
研究方法與材料.....	10
第一章:受試者選擇標準.....	10
第二章:研究設計與流程.....	11
第一節:研究活動設計.....	11
第二節:研究活動流程.....	11
第三節:檢體分析方法.....	12

第三章:統計方法.....	14
研究結果.....	16
第一章:基本資料及抽血資料結果分析.....	16
第二章:基因型B及C之結果分析.....	18
第三章:非原住民與原住民族群間基因型B及C之結果分析 .....	19
第四章:基因型D之結果分析基本資料及抽血資料結果分析.....	20
討論.....	21
未來展望.....	25
英文論文簡述.....	27
Introduction.....	27
Methods.....	36
Results.....	42
Discussions.....	50
Future Prospects .....	56
參考文獻.....	59
附錄.....	64



## 圖目錄

圖 1. B型肝炎病毒結構 .....	64
圖 2. B型肝炎病毒之DNA結構 .....	65
圖 3. B型肝炎病毒之主要基因型世界分佈圖 .....	66
圖 4. 南島語族之世界分佈 .....	67
圖 5. 問卷內容 .....	68
圖 6. 研究活動流程 .....	69
圖 7. B型肝炎病毒六種基因型之電泳圖.....	70
圖 8. 不同年齡層非原住民與原住民之基因型B盛行率.....	71



## 表目錄及附件

表 1. 判定B型肝炎病毒基因型所用之Nested PCR及multiplex-PCR之引子.....	72
表 2. B型肝炎病毒全長基因體定序之引子.....	73
表 3. B型肝炎受試者之基本資料及抽血資料 .....	74
表 4. 基因型B或C之B型肝炎受試者基本資料及抽血資料 .....	75
表 5. 非原住民與原住民不同基因型與e抗原狀態之比較 .....	76
表 6. 四大原住民語系不同基因型與e抗原狀態之比較 .....	77
表 7. 基因型D者之基本資料及抽血資料 .....	78
附件 1. 受試者同意書.....	79



## 緒論

### 第一章：背景及詳細的文獻回顧

#### 第一節：台灣 B 型肝炎在非原住民與原住民的角色

全球估計約有 4 億位慢性 B 型肝炎帶原者，隨著肝炎、肝硬化、肝癌三部曲的進展，這些慢性 B 型肝炎患者終其一生大約有 15-40% 的人會罹患肝硬化、肝衰竭或是肝癌，甚至每年更約有 50 萬人死於肝癌[1-4]。在台灣每年國人約有 5000 人死於慢性肝病及肝硬化，約有 7700 人死於肝癌，成為國人癌症死因的第二位，在男性中更高居癌症死因第一位，其中造成國人肝癌的主要原因為慢性 B 型肝炎感染，其次為 C 型肝炎感染及其他肝病等[5-7]。

研究調查指出台灣約有 15-20% 的成年人為 B 型肝炎帶原者[6, 8]，而自 1984 年起政府開始推行全面新生兒 B 型肝炎疫苗施打，此一衛生政策大大降低青少年 B 型肝炎的帶原率至約 1%，且兒童罹患肝癌的比率也大幅減少[9-10]。

隨著時間與病程的進展，B 型肝炎帶原者日後變成慢性肝病與肝癌的威脅之大不容忽視，因 B 型肝炎盛行率在 30~49 歲之間達到高峰（約 21%）[8]，這些肝病的高危險族群正是身為家庭經濟支柱的青壯年，一旦生病整個家庭都跟著受累。

台灣以地域性來看，B 型肝炎的盛行率在台灣各縣市間有明顯的差異[8]，慢性肝病及肝硬化標準化死亡率方面，前幾名的縣市為台東縣、花蓮縣、屏東縣、南投縣及雲林縣（每十萬人口死亡率分別為 39.8、33.5、30.9、28.5、26.2）；而肝癌標準化死亡率方面，前幾名的縣市為澎湖縣、雲林縣、嘉義縣、嘉義市及台南縣（每十萬人口死亡率分別為 47.6、44.6、39.6、39.4、35.6）；台灣地區肝癌的存活率也有地域性的差別，北部地區的存活率高於中南部，都市地區高於鄉村地區[7, 11]。可見台灣偏遠地區的肝病死亡率較高且肝癌存活率較低。

以族群來看，原住民 B 型肝炎盛行率也存在顯著的差異，且高於台灣其他族群，如：山地原住民與泰雅族等[12-13]。原住民在慢性肝病及肝硬化的標準化死

亡率遠比台灣全人口之標準化死亡率高（每十萬人口死亡率為 77.0 vs. 21.4），尤以布農族、山地鄉、男性原住民較高，為其十大死因的第二位，在年紀 25-44 歲間者更高居第一位，且平均死亡年齡 49.7 歲遠低於非原住民；但原住民之肝癌標準化死亡率卻略低於台灣全人口之標準化死亡率（每十萬人口死亡率為 27.4 vs. 28.1），居癌症死因之第二位，以布農族（排灣語系）、平地鄉及山地鄉、男性原住民較高[14]。比較不同原住民族群間與不同地區之原住民間，調查發現男性原住民、山地鄉原住民、布農族或泰雅族，其罹患慢性肝病、肝硬化及肝癌死亡率的機率較高，是屬於肝病高危險群。

近年來許多學者研究發現，B型肝炎病毒e抗原陽性與否、B肝病毒量高低、血中ALT值是否異常、B型肝炎病毒基因型、B型肝炎病毒在其內的基礎核心促進子(basal core promoter, BCP)處或前核心區(Precore region)處發生突變與否、年齡大小、男女性別等因素，都會影響B肝患者未來罹患肝癌的風險[15-26]；其中B型肝炎患者罹患肝癌的風險，以男性、年齡較大、alanine aminotransferase (ALT)異常、HBeAg陽性、有肝硬化、病毒量較高、基因型C、precore1896處無突變及BCP(1762/1764)處有突變者較高，其中可改變的樞紐為B型肝炎病毒量，可經由藥物治療降低血中的病毒量，以減少肝癌的發生。期待未來能利用這些預測指標協助肝癌的早期發現，達到肝癌預防的層次[26]。

## 第二節：B 型肝炎病毒介紹

B型肝炎病毒表面抗原早在1965年由Dr.布倫伯格（Blumberg）於一位澳洲原住民的血清中發現。B型肝炎病毒隸屬於肝病毒科（Hepadnaviridae），顯微鏡下病毒大小約42奈米之圓形雙層顆粒，最外層為病毒的外套膜（envelope），其上有表面蛋白（surface protein），內層為核鞘蛋白（nucleocapsid），由核心蛋白（core protein）組成，最裡層是由核鞘蛋白所包含病毒「部分雙股鬆環結構」（partially

double-stranded, relaxed circular) 之去氧核糖核酸 (DNA) 及病毒聚合酶 (polymerase) (圖 1)。而蛋白外膜會產生HBsAg的抗原特性，核鞘蛋白則會產生HBcAg的特性，HBeAg為核心蛋白製造的過程中會產生的一種分泌型蛋白質，在病毒大量複製時會被釋放至血液中，可以作為病毒複製的血清學標記[27-29]。

病毒的特殊DNA結構包括一條完整的負股DNA以及一條不完整的正股DNA，其基因組 (genome) 約有3,200個鹼基對 (base pair)，含有4個開放閱讀框架 (open reading frame, ORF)，分別轉譯病毒的不同蛋白質，S轉譯成表面抗原、C轉譯成核心抗原和e抗原 (HBeAg)、P轉譯成聚合酶、X轉譯成X蛋白 (X protein, HBx) [27, 30-31]。病毒複製的過程中最容易產生變異的地方在：前核心區 (precore 1896)、基礎核心促進子 (basal core promoter, BCP T1762/A1764) 處及前表面基因S (Pre-S) 處發生基因缺陷，而這一些基因每個位置的變異速度大約每年為 $1.4\sim 3.2\times 10^{-5}/\text{site}$ ，B型肝炎病毒經過如此長期的演化，形成了現在許多不同類型的基因型、基因亞型、基因點突變或缺陷、基因重組等B型肝炎病毒學上的變化，而研究發現這些變化與未來B型肝炎患者罹患肝硬化與肝癌的風險有極大的相關性[28, 32] (圖 2)。

### 第三節：B型肝炎病毒之基因型分佈與其相關病況

人種不同，不但存在基因及性狀表現的差異，地理上的分佈也不同。B型肝炎病毒也有類似情況，演化至今它們有各種不同的基因型，分佈在全球不同區域，對肝臟的殺傷力也高低有別。

目前已知的B型肝炎病毒基因型主要有A、B、C、D、E、F、G、H、I、J等10種，依照發現的順序命名。全球各地域所盛行的病毒基因型有所不同，台灣及東亞以基因型B與C居多，大陸長江以北以基因型C為主，長江以南以基因型B為主。所羅門群島以基因型C與D為主，歐洲與南亞則以基因型A與D居多，至於美國與澳

洲之基因型較多元，A、B、C、D這4型都有。數量較少的基因型E主要分佈在西非、F跟H在中南美洲、G在美國與歐洲；I、J兩種基因型則主要分佈於東南亞及日本。近年來，美國與澳洲因為亞洲移民增加，基因型B與C的比例也隨之增加。另外，同一個基因型在不同區域會略有不同，例如非洲與歐洲的基因型A就有差異，即為不同之基因亞型[17, 33-37]（圖 3）。

研究推論B肝病毒基因型的分佈，可能與不同傳染途徑有關。在垂直傳染（即母親懷孕生產時傳給嬰兒）為主的地區，如台灣，以基因型B和C比較多，但在水平傳染（如：性行為與靜脈藥癮注射等途徑）的地區，則以基因型A與D為多，是不是因為不同傳染途徑會自動選擇出特定的基因型，目前還不清楚[20, 35, 38]。

台灣的B型肝炎病毒基因型主要是B與C最常見，感染基因型B病毒的病患，平均在30歲時e抗原會自動清除，基因型C則是40歲，對台灣早年的女性B型肝炎帶原者，e抗原自動清除的時間晚於其生育年齡，分娩時多半仍是e抗原陽性，才會容易一代傳一代，因此早年台灣的B型肝炎帶原者多是垂直感染或2歲前的感染[39-40]。另外，研究也發現自1945年第二次世界大戰後，由大陸遷移來台定居的人，若為B型肝炎患者，其基因型C的比率會較高[16, 19, 41]。

在台灣捐血民眾中統計發現，B型肝炎病患其基因型B/基因型C比例約80%/20%；無症狀的帶原者中比例約70%/30%；慢性B型肝炎患者比例約60%/40%；一旦出現肝硬化，比例降低至35%/65%；肝癌病患中比例約55%/45%[35, 38]。可見慢性B型肝炎患者病程較嚴重者，基因型C的比率會提高。基因型C雖然在B肝患者中比率較少，但患者的病情容易惡化，罹患肝硬化與肝癌的風險也比較高；另外，其接受干擾素治療的成功機率較差；B肝治療藥物（Lamivudine）停用後復發率也較高[16, 27, 41-43]。

#### 第四節：台灣之族群簡介

台灣長久以來經過多次的不同族群的遷徙與文化的交流，造就了現今族群多元融合的社會，撇開政治的因素與話題，常說台灣四大族群指的是台灣閩南人（鶴佬人，Hō-Lóh-Lang）、客家人（Hakka）、外省人及原住民四大族群[44]。

鶴佬人屬於漢族，又稱福佬人、河洛人、閩南人或台灣人等，即為現在通稱的「台灣四大族群」裡人數佔最多的一個族群（約76%），為目前台灣的主要族群[45]。追溯之前的歷史，其為近四百年來由中國東南沿海的福建省移居來台之移民的後代，主要分成漳州人和泉州人兩大支，一說以漢化的百越民族為主，另一說則以逐年南遷的漢人為主[46]。

客家人（約佔20%）大約自康熙二十二年（西元1683年）後，大批由大陸來台定居，大多聚集在台灣靠山的丘陵地區，如：桃竹苗一帶。其起源於宋朝開始，中原漢民大舉南遷，經贛南、閩西到達梅州，最終形成相對成熟的、具有很強穩定性的族群。此後，客家人又以梅州、贛州、汀州、惠州為基地，大量外遷到台灣、大陸各省乃至世界各地[45, 47]。

外省人（約佔10%）在台灣通常是指1945年台灣光復後，來台定居的大陸各省市人士，與其相對的稱呼是住在台灣本省的本省人，隨著時代的變遷外省人的稱呼逐漸淡漠[44-45, 48]。

臺灣原住民（約佔2%），依目前中華民國行政院原住民族委員會所承認的台灣原住民族總共有14個族群，包括：泰雅族、賽夏族、布農族、鄒族、魯凱族、排灣族、卑南族、阿美族、雅美族、邵族、噶瑪蘭族、太魯閣族、撒奇萊雅族及塞德克族。若依照其特殊語系區分，可分為4大語系，包括：泰雅語系（泰雅族、太魯閣族、塞德克族）；排灣語系（阿美族、排灣族、卑南族、布農族、賽夏族、邵族、噶瑪蘭族、撒奇萊雅族）；鄒族語系（鄒族、魯凱族）；巴丹語系（雅美族）。

居住地區分為都會區、平地區與山地區，其中以都會區原住民占40.3%較多；就族別劃分，以阿美族約37.4%最多（多居住於花蓮縣、台東縣及台北縣），其次為泰雅族（18.3%，多居住於桃園縣、新竹縣及南投縣）與排灣族（17.6%，多居住於屏東縣、台東縣及桃園縣），現今居住地多位於花蓮縣(約佔18.5%)、台東縣(約佔16.3%)及屏東縣(約佔11.5%)[14]。

在人類學分類上，台灣原住民屬於「南島語族」(Austronesian language)，是指漢人移居台灣前最早抵達台灣定居的族群。依據語言學、考古學及文化人類學的研究推斷，台灣原住民在台灣的活動已有數千年之久。南島語族是世界上分佈最廣的民族；分佈地區西起非洲東南的馬達加斯加島，越過印度洋直抵太平洋的復活節島；北起台灣，南到紐西蘭[49-51]（圖 4）。有學者指出大約五、六千年前南島民族即由大陸東南沿海一帶，渡海遷徙定居來台灣，為其原始的居留地之一，之後再往菲律賓、印尼、密克羅尼西亞、夏威夷、復活節島、紐西蘭等波里尼西亞地區擴散[51]。

國內學者們在紅血球抗原表現型的分析研究顯示，台灣原住民族群和台灣的閩南或客家族群或中國大陸族群間，某些紅血球抗原表現型頻率，有明顯的差異。尤以台灣東部的阿美族、卑南族及排灣族，歧異度較大。其中MiIII血型（屬於MNSs血型系統，為稀有血型）在阿美族95%，雅美族34%，卑南族21%，是世界上頻率最高的三個族群，但地理區相近的魯凱族與排灣族的比例反而是0%，可推論台灣原住民是不同的年代來到台灣，而且互不通婚[52-53]。

綜合上述的研究結果，台灣偏遠地區居民及原住民之 B 型肝炎患者，確為罹患肝癌之高危險群，且為存活率較低之族群，不同族群間可能存在差異性，值得進一步的研究與探討。

## 第二章、欲研究的問題及其重要性

### 第一節：偏遠地區居民及原住民族罹患 B 型肝炎概況

經由研究背景可知，B 型肝炎的盛行率在台灣存在明顯的地域性與原住民族群性的差異，如：山地鄉原住民及泰雅族較高；慢性肝炎、肝硬化與肝癌標準化死亡率，在偏遠地區偏高，如：台東縣、花蓮縣、屏東縣、南投縣、雲林縣、澎湖縣、嘉義縣、嘉義市及台南縣等縣市；原住民族群慢性肝病死亡率較高，如：布農族（排灣語系）、山地鄉及男性原住民；肝癌的存活率也存在地域性的差異，如：北部地區的存活率高於中南部，都市地區高於鄉村地區[8, 11-14]。

B 型肝炎患者統計發現，以男性、年齡較大、ALT 異常、HBeAg 陽性、有肝硬化、病毒量較高、基因型 C、precore 1896 處無突變及 BCP (1762/1764) 處有突變者，未來有較高罹患肝癌的風險[26]。

偏遠地區居民及山地鄉原住民所居之地，通常交通相當不便，就醫路途少則數十分鐘，多則數小時，翻山越嶺或是爬山涉水或是搭機乘船的看病行為，對他們來說是相當浪費時間且耽誤經濟生產的事，通常身體出現嚴重症狀才會積極就診。而肝臟這樣沈默的器官，即使罹患肝病通常都沒有症狀，容易讓人輕忽了它，往往肝癌末期出現症狀才就醫，預後與存活率都很差。因此對於身體無症狀的 B 型肝炎帶原者，縱使知道其罹患肝癌的機會比正常人高，能定期做抽血及腹部超音波檢查來關心不痛不癢的肝炎病人，實在有執行上的困難。

不同地域性與族群性的差異，除了醫療資源較貧乏、生活習慣與醫療照護分佈不均的因素之外，是否還有其他的因素會影響其中的差異，相當值得研究探討。在學術研究的同時，最重要的是能藉此提供偏遠地區 B 型肝炎患者完整的肝病檢查，支援醫療貧乏的偏遠地區，提昇全國各地就醫可近性(accessibility)，並建立完整的 B 型肝炎資料檔，可提供未來政府相關單位建立肝病照護網絡之參考依據，達到全人醫療照護的目標。

## 第二節：B 型肝炎病毒之基因型於不同族群之分佈

B 型肝炎病毒基因型主要有 A、B、C、D、E、F、G、H、I、J 等 10 種，全球各地域所盛行的病毒基因型有所不同，台灣及東亞以基因型 B 與 C 居多，大陸長江以北以基因型 C 為主，長江以南以基因型 B 為主，所羅門群島以基因型 C 與 D 為主[17, 36-37]。

台灣的 B 型肝炎病毒基因型主要是 B 與 C 最常見，B 型肝炎帶原者多是垂直感染或 2 歲前的感染，其中一般捐血族群的基因型 B 約佔 80%。再者研究也發現自 1945 年第二次世界大戰後，由大陸南方遷移來台定居的人（如：多居住在澎湖縣、金門縣與連江縣等地），若為 B 型肝炎患者，其基因型 C 比率會較高[6, 16, 19, 35, 41]。

多元化的台灣社會，分為四大族群，其中更可歸類原住民與非原住民兩個族群，因為在人類學上兩者屬於相當不同的來源。非原住民包括：台灣閩南人、客家人及外省人，其祖先多來自於中國大陸；而台灣原住民則屬於「南島語族」，是指漢人移居台灣前最早抵達台灣定居的族群。

健康調查中發現原住民之慢性肝炎或肝硬化死亡率都高於非原住民，但是肝癌的死亡率卻低於非原住民；研究又得知 B 型肝炎病毒的基因型會影響肝癌及肝硬化的罹患風險，且肝癌存活率的地區性差異，因此探討非原住民與原住民族群之間，B 型肝炎病毒的基因型分佈是否存在差異，更能了解造成偏遠地區及原住民肝病嚴重度的原因。

另外，南島語族在太平洋與印度洋的遷移路徑，為人類文明發展史上相當重要的事件之一，其遷徙路徑的假說很多，但目前尚無一個確定的解釋假說。近年較為盛行的說法是台灣是南島民族的起源地，凸顯了台灣在南島民族遷徙過程中的重要地位。台灣原住民族群間 B 型肝炎病毒基因型分佈之相關研究，亦可提供南島語族遷徙演化的參考依據。

### 第三章、研究的假說與特定目的

經由上述可知，B型肝炎的盛行率、慢性肝炎、肝硬化與肝癌標準化死亡率及肝癌的存活率，在台灣存在明顯的地域性、不同族群間與原住民族群間的差異。另外研究又得知B型肝炎患者之較大年齡、ALT異常、HBeAg陽性、病毒量較高、病毒基因型C者，罹患肝硬化及肝癌的風險較高。

因此我們假設，台灣原住民之慢性肝炎或肝硬化死亡率都高於非原住民，但是肝癌的死亡率卻低於非原住民之原因，可能與日本學者在沖繩縣所研究相似：B型肝炎高盛行地區但其肝癌死亡率卻較低，原因是病毒基因型主要為罹患肝癌風險較低之基因型B[54]。

另外，同為偏遠地區原住民與非原住民之B型肝炎患者，其B型肝炎病毒的基因型、病毒量分佈及HBeAg陽性率等因素，在族群之間應該會存在差異性而影響肝病的死亡率。本研究希望能探討除了醫療環境、生活習慣與社經地位的影響之外，B型肝炎基因型等因素，是否也存在地域性或族群性差異，而影響未來罹患肝癌之風險，提供未來醫療照護與衛生政策之參考。

而南島語族在太平洋與印度洋的遷移路徑，為人類文明發展史上相當重要的事件之一，近年較為盛行的說法是台灣是南島民族的起源地，凸顯了台灣在南島民族遷徙過程中的重要地位。而居住於台灣地區的南島語族間，由紅血球抗原表現型等遺傳學研究推論台灣原住民是不同的年代來到台灣，而且互不通婚。因此我們再假設，B型肝炎病毒的基因型的分佈，在不同族群間應存在其差異性。而此差異性未來可能提供南島語族遷徙路徑之參考，原因是台灣B型肝炎傳染途徑多為母傳子之垂直傳染，此類似於以粒線體DNA作為研究題材。

## 研究方法與材料

### 第一章：受試者選擇標準

研究計畫在受試者選擇上，主要結合兩大來源：

1. 由財團法人肝病防治學術基金會 10 多年來，針對台灣民國 74 年 01 月 01 日前出生，自願前來做肝病篩檢民眾中，篩檢為 B 型肝炎表面抗原（HBsAg）陽性之患者；
2. 各地區衛生所針對各鄉鎮民眾做全面性整合式篩檢等活動中，被衛生單位列管追蹤的所有 B 型肝炎帶原者（HBsAg 為陽性）。或當地醫療院所之列管追蹤 B 型肝炎帶原者（HBsAg 為陽性）。

活動前個別通知 B 肝患者，活動當天進行問卷、抽血及腹部超音波檢查，受試者來源分佈於台灣北、中、南、東及離島各地，包含所有族群，男女不拘，職業不限。

個案來源地區，包含：內政部所公告之偏遠地區（定義：人口密度低於全國平均人口密度五分之一之鄉（鎮、市），或距離直轄市、縣（市）政府所在地 7.5 公里以上之離島），或行政院研考會公布偏遠程度較高的鄉鎮等。

所有受試者（包含非原住民與原住民）在詳盡告知研究過程後，必須同意參與本研究，並於受試者同意書（於民國 97 年 3 月 3 日經台大醫院研究倫理委員會審核通過臨床試驗研究計畫編號：Protocol ID: 200801059R（ClinicalTrials.gov ID: NCT00946010），研究時間自同意核備日起至民國 100 年 1 月 31 日止）上簽名且註明日期（附件 1）。

## 第二章：研究設計與流程

### 第一節：研究活動設計

B型肝炎病患名單確定之後，以台灣各地區之適當場地，由肝病防治學術基金會專業人員與當地衛生及行政工作人員配合，讓已訓練良好之工作人員進行病患問卷標準化的調查（包括：受試者及其父母親之出生地、居住地、是否具有原住民哪一族之身分、是否具有客家人身份、是否曾經接受輸血、開刀手術、刺青或穿體洞、與他人共用針頭及是否有飲酒習慣等（圖 5）、基本資料填寫與測量（包括：年齡、性別、身高、體重及腰圍等）、檢體採集及腹部超音波檢查之執行。

正確腰圍測量是根據國民健康局的建議，須先除去腰部覆蓋的衣物，讓病患輕鬆站立，雙手自然下垂，以皮尺繞過腰部，調整高度使能通過左右兩側腸骨上緣至肋骨下緣的中間點，同時皮尺必須與地面保持水平，並緊貼而不擠壓皮膚，維持正常呼吸，在吐氣結束時，量取其腰圍。

### 第二節：研究活動流程

由肝病防治學術基金會與當地衛生及行政工作人員一同合作，針對活動流程進行規劃與執行，檢驗場地共分為四站（圖 6），分別為：

第一站—領取基本資料表及問卷並加以填寫

第二站—領取貼有編號的試管並由護理人員進行抽血約 10c.c.

第三站—測量身高（cm）、體重（Kg）及腰圍（cm）

第四站—醫師進行腹部超音波檢查，之後由專業護理師進行個別肝病諮詢。

待檢驗報告完成後，連同 B 型肝炎衛教手冊寄送至連絡地址，並給予電話、網路及信件等諮詢管道，同時將名單交予相關衛生單位做陸續定期追蹤。針對有特殊需緊急處理病況之患者，安排專業護理師給予適當之轉診服務與醫療照護。

### 第三節：檢體分析方法

收集之 HBsAg 陽性檢體僅附有編號，不含任何受試者之基本資料，基於對受試者之隱私權保密原則，依台大醫院研究倫理委員會規定，受試者的任何資料均不會做任何具名發表。

檢體收集後進行離心，並將離心後之血清檢體放置-70°C 冰箱保存。取 500  $\lambda$  檢體，利用血清化學自動分析儀 (serum chemistry autoanalyzer) 進行血清之 AST (Aspartate Aminotransferase) 及 ALT (Alanine Aminotransferase) 檢驗、再以商用試劑 (commercially available kits) 搭配酵素免疫分析法 (ELISA) 檢驗分析血清中之 AFP (alpha-fetoprotein)、HBeAg 及 anti-HBe 數值。

B 型肝炎病毒量的分析，是取 200 $\lambda$  檢體血清以商用試劑 (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen Inc.) 萃取出病毒之 DNA，取出之 HBV DNA 濃縮液置於螢光定量聚合酵素鏈鎖反應 (PCR) 機器 (ABI Prism® 7300) 中，以即時聚合酶鏈反應法 (Real-Time polymerase chain reaction, Real-Time PCR) 技術先進行 B 型肝炎病毒量 (HBV DNA level) 的檢測。PCR 原理為：

- (1) 變性反應 (denaturizing)，使 DNA 的兩股分離。
- (2) 緩冷配對反應 (annealing)，使引子 (primer) 與目標 DNA 配對。
- (3) 延長反應 (extension)，合成新的 DNA 股。

相同步驟循環多次後，可得到大量之 DNA。其引子特殊片段為作用於 preS2/S (NC003977)，序列為[55]：

5'-AGTGGGCCTCAGTCCGTTT-3' (forward) 及

5'-AGCCCTACGAACCACTGGAACA-3' (reverse) ，

序列片段的螢光探頭序列為：

(FAM)-5'-TCCTGGCTCAGTTTACTAGTGCCA-3'- (TAMRA) ，

偵測範圍為 50~2x10<sup>9</sup> IU/ml，每次結果的標準曲線校正來自於 Macrometrix 標準

液，並與其他 Amplicor assay (Roche) 校正，得到判定係數  $R^2=0.98-1.0$ 。

B 型肝炎病毒之基因型檢測，取萃取好的 HBV DNA，先以巢式聚合酶鏈反應法(nested polymerase chain reaction, nested PCR) 放大 HBV DNA 的量，其引子為：HBV-2821F and HBV-2437R (表 1)；再來加入不同特定基因型的引子(表 1)，多重聚合酶鏈鎖反應 (multiplex-polymerase chain reaction, multiplex-PCR) 技術進行分析，PCR 45 個循環後，接著跑 2% 洋菜膠電泳。除經過多次重複分析，以檢定基因型之正確性外，並再送定序 (sequencing) 分析[56-58]。

為確定基因型之正確性，選取其中數個檢體進行病毒全長基因體和次基因體的增幅與定序。調整了德國 Günther 等設計出來的引子[59]，在 HBV 外環基因體的缺口(nick)兩側設計一對引子 P1(X+S)F 及 P2(X+S)R (表 2) 以進行聚合酶連鎖反應，使用具有校正功能的聚合酶(KOD-Plus DNA polymerase, TOYOBO CO., LTD)，PCR 循環 35 次，接著進行 1% 洋菜膠電泳，再以市售純化套組(GFX™ Polymerase Chain Reaction DNA and Gel Band Purification Kit, Amersham Biosciences, GE Healthcare, USA)將 PCR 純化得到產物。接著使用自動定序儀並依操作手冊進行定序工作，利用 1 個反向定序引子和 5 個正向定序引子(表 2)將這些 PCR 產物加以定序。經由 6 組定序反應可得到部分重疊的核苷酸序列，利用 DNA STAR Lasergene® v8.0 SeqMan Pro 此軟體比對序列並組合成完整的病毒全長序列。所得之 B 型肝炎病毒之全長基因體定序分析，其基因型結果與 PCR 所得之病毒基因型結果均相同。

### 第三章：統計方法

將收集之受試者基本資料、問卷、基因型、腹部超音波報告等資料，以 Excel 或 STATA 或 SAS 等統計軟體作一般分佈性統計等分析，包括：年齡、性別、身高、體重、腰圍、出生地、居住地、族群分佈、父母親之出生地、居住地、族群分佈、接受輸血與否、開刀手術與否、刺青或穿體洞與否、共用針頭與否、經常飲酒習慣（每天或 2-3 天喝一次）、HBV 基因型分佈、ASL、ALT、HBeAg 陽性率、anti-HBe 陽性率、脂肪肝與否（肝實質與右腎皮質間亮度對比是否增加）及肝硬化與否（是否有肝實質紋理、結節狀之左側肝臟表面以及不規則狹窄之右肝靜脈）等，初步檢視其相關性。

AST 的標準值訂為：男<37、女<31 U/L；ALT 的標準值訂為：男<41、女<31 U/L，其切入點（cut point）設為超過 40 U/L 為異常，作為統計分析；B 型肝炎病毒量的 cut point，設在美國肝病學會（AASLD）及亞太肝病研究會（APASL）2008 年公布之慢性 B 型肝炎治療準則之建議治療：當 ALT 大於 2 倍以上，e 抗原陰性者且其 HBV DNA 值>2,000 或是 e 抗原陽性者且其 HBV DNA 值>20,000 IU/ml。出生地與居住地大致分為：北(基隆、台北、桃園、新竹)、中(苗栗、台中、南投、彰化、雲林)、南(嘉義、台南、高雄、屏東)、東(宜蘭、花蓮、台東、蘭嶼)、離島(澎湖、金門、連江縣、福建)、其他(中國、泰國、越南、柬埔寨、印尼等)。原住民又區分為 4 大語系。

最後將所有的受試者，依照其族群之不同區分為原住民與非原住民兩大族群，比較其間之差別；取其中有基因型資料結果之受試者，區分為基因型 B 及 C 兩群，比較其間之差別。進一步依照其 e 抗原陽性或陰性，比較原住民與非原住民間或不同族別原住民之基因型 B 比率。以  $\chi^2$  test 或 t-test 或 Fisher's exact test 等分析不同地區或不同族群之間各因子的關係，並以 logistic regression 或 linear

regression 在矯正年齡、性別、ALT 等資料下，檢視各組間其基因型或病毒量與其他因子是否有所差異及其相關性。



## 研究結果

### 第一章：基本資料及抽血資料結果分析

本研究總共收集了 3,488 位來自於偏遠地區的 B 型肝炎患者，主要 42 個鄉鎮包括：北部（台北縣烏來鄉、桃園縣復興鄉）、中部（雲林縣虎尾鎮、南投縣信義鄉、南投縣仁愛鄉、苗栗縣泰安鄉、大湖鄉）、南部（屏東縣三地門鄉、車城鄉、恆春鄉、牡丹鄉、獅子鄉、琉球鄉、高樹鄉、嘉義縣阿里山鄉）、東部（台東縣海端鄉、達仁鄉、大武鄉、東河鄉、延平鄉、蘭嶼鄉、金峰鄉、卑南鄉、長濱鄉、綠島鄉、關山鎮、太麻里鄉、鹿野鄉、池上鄉、宜蘭縣南澳鄉、大同鄉、花蓮縣秀林鄉、萬榮鄉、卓溪鄉）及離島（連江縣南竿鄉、北竿鄉、東引鄉、東莒鄉、西莒鄉、澎湖縣湖西鄉、馬公縣、白沙縣）。

受試者皆有簽署受試者同意書、填寫資本資料並收集檢體，其中 2,663 位受試者亦完成腹部超音波檢查。

受試者基本資料方面：男/女人數比約為 1（1,720 人/1,768 人），平均年齡為 50.7 歲，平均 BMI（體重公斤/身高公尺平方，單位  $\text{Kg/m}^2$ ）為  $26.1 \text{ Kg/m}^2$ 。

抽血資料方面：平均 AST 為 34 U/L，平均 ALT 為 39 U/L，e 抗原陽性率為 8%（280 人/3,488 人），甲種胎兒蛋白異常者（AFP >20 ng/ml）為 0.6%（22 人/3,488 人）。平均 HBV DNA 為 25,340,981 IU/ml，29%（1,012 人/3,488 人）受試者檢測不到血中病毒量，小於 2,000 IU/ml 者 67.4%（2,349 人/3,488 人），大於 2,000 IU/ml 者 32.6%（1,139 人/3,488 人），大於 20,000 IU/ml 者 17.8%（621 人/3,488 人）。

取其中 1,178 人有完整的病毒量、ALT、e 抗原及問卷等資料者，以 linear regression 個別分析病毒量高低與年齡、性別、脂肪肝、肝纖維化或肝硬化、e 抗原陽性、AST、ALT、基因型、BMI、飲酒、原住民與否、曾經輸血、開刀、刺青、共用針頭等因子，是否有關連性。結果發現病毒量高低與年齡、e 抗原陽性、基

因型及原住民與否，這4個因子有統計上顯著關係。在矯正年齡與性別的因素下，再共同分析此4個因子發現，僅e抗原陽性者（ $\beta$ 值：0.271， $p$ -value<0.001）與基因型C者（ $\beta$ 值：0.175， $p$ -value<0.001）會使病毒量增高。

問卷方面：56.2%（1,961人/3,488人）受試者本身為非原住民，本身為原住民之排灣語系人數最多（42%），泰雅語系次之（35.2%），鄒族語系再次之（22.4%），巴丹語系最少（0.3%）。出生地在南部最多（31.5%），其次為中部（24.8%）、東部（18.9%）、離島（18.0%）、北部（5.5%）、其他（1.3%），其居住地也和出生地有相同趨勢。曾經輸血者14.7%（502人/3,413人），曾經開刀手術者49.2%（1,694人/3,446人），曾經刺青或穿體洞者29.2%（1,003人/3,435人），曾經共用針頭者7.0%（239人/3,421人），有經常飲酒習慣者約27.9%。

腹部超音波檢查方面：有脂肪肝者52%、有肝硬化者2.9%。

將受試者分為原住民（1,527人）與非原住民（1,961人）兩大族群，原住民只要父母其一有原住民血統就歸入，其中有兩個族群無受檢人數，即：賽夏族及噶瑪蘭族。非原住民的部份，包括：閩南人、客家人及外省人3各族群。基本資料與抽血資料顯示（表3）：

1. 非原住民男/女人數比高於原住民（1.2 vs. 0.8）；e抗原陽性率非原住民亦高於原住民（10.2% vs. 5.3%）；非原住民之平均HBV DNA值與HBV DNA>2,000 IU/ml比率（36.7% vs. 27.4%）均高於原住民。此四個變項經過 $\chi^2$ 或t-test分析， $p$ -value皆小於0.0001，達到統計上顯著差異。

2. 平均AST值原住民高於非原住民（37.6 vs. 31.6 U/L）；有經常飲酒習慣者比率，原住民則遠高於非原住民（40.0% vs. 19.3%）。此兩個變項經過 $\chi^2$ 或t-test分析， $p$ -value皆小於0.0001，達到統計上顯著差異。

3. 兩者平均年齡約50歲左右；兩者平均ALT為39 U/L，統計上並無差別。

另外，腹部超音波檢查部分：原住民的脂肪肝比率較非原住民略高（55.2% vs. 50.3%， $p$ -value=0.017）；而兩者在肝實質病變或肝硬化的比例相同 29%。

## 第二章：基因型 B 及 C 之結果分析

在 3,488 個檢體實驗中 PCR 有得到基因型結果的檢體共 1,335 人（38.3%），共檢驗出 6 種基因型狀況，包括：基因型 B、C、D、B+C、B+D、B+C+D（圖 7），所佔比率分別：基因型 B：75.6%（1009 人）、基因型 C：17.7%（236 人）、基因型 D：1.0%（13 人）、基因型 B+C：4.9%（66 人）、基因型 B+D：0.7%（10 人）、基因型 B+C+D：0.1%（1 人）。在只考慮基因型 B 或 C 條件下，基因型 B 的盛行率為 80.6%；但在扣除離島地區（連江縣 41.7%（70 人/168 人）與澎湖縣 34.2%（13 人/38 人））後，基因型 B 的盛行率為 89.1%；若以地區來看，基因型 B 的比率為：東部（92.7%）>中部（91.22%）>北部（90.2%）>南部（82.0%）>離島（40.3%）。

在可得到基因型的 1,335 人中，篩選出同時有 e 抗原陽性或陰性資料者 1,185 人，再將這些人分為基因型 B 及 C 兩組進行分析，基本資料與抽血資料顯示：基因型 B 者平均年齡較基因型 C 者大（50.3 vs. 48.1 歲）；基因型 B 者其 e 抗原陽性率較基因型 C 者低（10.3% vs. 37.4%）；基因型 B 者其平均 ALT 及異常 ALT 也較低（44 vs. 54 U/L、35.7% vs. 43%）；基因型 B 者其平均 HBV DNA 值與 HBV DNA>2,000 IU/ml 也較低。此四個變項經過  $\chi^2$  或 t-test 分析， $p$ -value 皆小於 0.05，達到統計上顯著差異（表 4）。

以 logistic regression 來檢驗影響成為基因型 B 的相關因子，得到之結果為：年齡較大者（odds ratio [OR]= 1.014，95% confidence interval [CI]= 1.003-1.025， $p$ -value=0.0161）、居住在非離島地區、原住民（尤其是鄒族最高，其 OR=24.026，95%CI=3.315-174.143， $p$ -value=0.0017）、ALT 低、病毒量低、e 抗體陽性者（odds

ratio [OR]=5.691, 95% confidence interval [CI]= 3.899-8.306,  $p$ -value<0.0001), 無肝纖維化或肝硬化者, 預測其帶有基因型 B 的機會較高。

### 第三章：非原住民與原住民族群間基因型 B 及 C 之結果分析

取其中 1,178 人有完整基因型 B 或 C 與 e 抗原陽性或陰性資料的受試者, 將這些人分為非原住民與原住民兩組進行分析顯示: 原住民基因型 B 比率為 92.7% 高於非原住民為 72.7% (若扣除連江縣為 82.2%, 若扣除澎湖縣為 74.9%, 若同時扣除連江縣與澎湖縣為 85.6%), 皆達統計上顯著相關 ( $p$ -value<0.05)。再將 e 抗原分為陽性與陰性兩組, e 抗原陽性者中 (188 人), 非原住民的基因型 B 盛行率較低 (44.5% vs 83.3%); e 抗原陰性者中 (990 人), 非原住民的基因型 B 盛行率較低 (80.0% vs 93.7%), 且經過  $\chi^2$  分析,  $p$ -value 皆小於 0.0001, 達到統計上顯著差異 (表 5)。

有完整基因型 B 或 C 與 e 抗原陽性或陰性資料的 467 位原住民受試者, 依照其所屬語系不同分為 4 組, 包括: 泰雅語系、排灣語系、鄒族語系、巴丹語系 (無此語系之受試者), 分析結果顯示: 鄒族語系之基因型 B 的比率最高 97.8%, 其次為排灣語系 96.4%, 再者為泰雅語系 88.1%, 但並未達到統計上顯著相關 ( $p$ -value=0.182)。再將 e 抗原分為陽性與陰性兩組, e 抗原陽性者中 (42 人), 鄒族語系之基因型 B 盛行率最高 (100%), 其次為排灣語系 (89.5%) 及泰雅語系 (66.7%), 但 3 組間並未達到統計上顯著相關 ( $p$ -value=0.0775); e 抗原陰性者中 (425 人), 鄒族語系之基因型 B 盛行率最高 (97.9%), 其次為排灣語系 (97.1%) 與泰雅語系 (89.7%), 且經過  $\chi^2$  分析,  $p$ -value 為 0.0054 (<0.05), 達到統計上顯著差異 (表 6)。

若以年齡分層來看非原住民與原住民之間的關係, 統計發現原住民族群基因型 B 之盛行率, 不論在哪一個年齡層都高於非原住民族群; 且不論在原住民或非

原住民族群，從 40 歲開始基因型 B 盛行率即開始顯著提高，經過 Fisher's exact test 或  $\chi^2$  test 分析皆顯示兩者間有統計上顯著差異 ( $p$ -value <0.05) (圖 8)。

#### 第四章：基因型 D 之結果分析基本資料及抽血資料結果分析

研究中發現 13 例在台灣相當罕見的基因型 D 受試者，其男女比為 0.86，平均年齡為 49.3 歲 (男/女：54.5/44.9 歲)，其平均年齡與基因型 B 或 C 者未有明顯差異。

抽血資料顯示平均 AST 為 67 U/L，平均 ALT 為 43 U/L，甲種胎兒蛋白平均值為 11 ng/ml，其值異常者 16.7%，e 抗原陽性率 15.4%，平均 HBV DNA 值 10,309,203 IU/mL，HBV DNA 值 >2,000 IU/ml 為 100%。

其出生地及居住地多集中於屏東縣 (12 位)，只有 1 位在嘉義縣。這 13 位受試者有 12 位有原住民身分，其中以排灣族最多 (10 人)，其他 3 人分別是魯凱族、鄒族及非原住民。問卷中顯示 13 位受試者中有 2 位 (15.4%) 曾經接受過輸血、6 位 (46.1%) 曾經接受開刀手術，有 5 位 (38.5%) 曾經刺青或穿體洞，無人曾經共用針頭 (表 7)。

## 討論

本研究發現在台灣偏遠地區居民及原住民之 B 型肝炎患者中，影響罹患肝癌風險的因子，原住民都較非原住民族群為低，如：低 e 抗原陽性率 (5.3% vs. 10.2%， $p$ -value<0.0001)，較低平均病毒量且 HBV DNA>2,000 IU/ml 者比率較低 (27.4% vs. 36.7%， $p$ -value<0.0001) 及任何年齡層之基因型 B/C 盛行率皆較高 (92.7% vs. 72.7%， $p$ -value<0.05)，且均達統計上顯著差異。另外，離島地區的 B 型肝炎患者以基因型 C 為主 (60%)，本島地區以基因型 B 為主 (89%)，原住民之基因型 B 比率顯著高於非原住民，其中以鄒族語系與排灣語系之基因型 B 的比率最高約 97%。再者研究中發現在台灣相當罕見的基因型 D，主要集中於屏東縣，以當地排灣族居多，其病毒量較高 (HBV DNA>2,000 IU/ml)，且問卷資料顯示雖有部分患者曾經接受輸血、開刀、刺青或穿體洞，但無人曾共用針頭。

國內學者研究發現 B 型肝炎患者中，以男性、年齡較大、ALT 異常、HBeAg 陽性、有肝硬化、病毒量較高、基因型 C、precore1896 處無突變及 BCP (1762/1764) 處有突變者，未來有較高罹患肝癌的風險[26]。本研究顯示台灣偏遠地區居民中，無症狀的 B 型肝炎帶原者，e 抗原陽性率為 8%，且非原住民 e 抗原陽性率高於原住民 (10.2% vs. 5.3%， $p$ -value<0.0001)，皆遠低於其他學者研究之 B 肝家族中的無症狀 B 型肝炎帶原者 (20%) [60]。非原住民與原住民間之平均 ALT 並無顯著差異，但是原住民之平均 AST 與經常飲酒習慣比率卻高於非原住民，推論此可能是飲酒習慣造成 AST 偏高的狀態。另外，有 29% 的 B 型肝炎帶原者血中檢測不到病毒量，HBV DNA 高於 2,000 IU/ml 者高達 32.7%，而非原住民之平均病毒量或 HBV DNA 高於 2,000 IU/ml 者比率都高於原住民 (36.7% vs. 27.4%， $p$ -value<0.0001)；另外本研究也發現，只有 e 抗原陽性與基因型 C 這兩個因子，與增加病毒量有關係。且不論 e 抗原陰性或陽性，原住民帶有基因型 B 的比率均遠高於非原住民 (e 抗原陽性者：83.3% vs. 44.5%， $p$ -value<0.0001；e 抗原陰性者：

93.7% vs. 80.0%,  $p$ -value<0.0001), 且不管哪一個年齡層原住民基因型 B 之盛行率皆高於非原住民。總結上述, 影響罹患肝癌風險的因子, 原住民都較非原住民族群為低, 推論屬於南島語族的台灣原住民, 其體內的免疫系統或天生遺傳基因等因子與非原住民族群有所不同, 可能增強其對 B 型肝炎病毒的抵抗力

國內外研究得知 B 型肝炎患者在未來可能罹患肝硬化及肝癌的風險都較高, 且為形成肝癌的主要原因[1, 61], 在衛生署統計中也發現慢性肝病及肝硬化之標準化死亡率, 原住民較全國人民為高, 平均壽命較非原住民短 (0 歲平均餘命 68.5 vs. 77.9), 且 25-44 歲之原住民主要死因第一位為慢性肝病及肝硬化, 但肝癌之標準化死亡率原住民卻較低[7, 14]。再加上本研究發現, 罹患 B 型肝炎之原住民, 影響其罹患肝癌之危險因子都較非原住民為低, 平均 AST 值與經常飲酒比率 (40%) 較高, 所以得知, 造成原住民慢性肝病及肝硬化死亡率高之主要原因並非 B 型肝炎所致, 應為酒精性肝炎等其他原因。再加上原住民族群居處於偏遠地區交通不便, 醫療資源較貧乏, 醫療照護系統較差, 這些肝炎患者在病程尚未發展至肝癌時, 就已經死亡了, 所以原住民之肝癌死亡率才會較非原住民低。

因此, 如何在公共衛生政策方面克服偏遠地區民眾就醫不便的困難、改善肝病醫療照護系統 (提昇社區醫學與基層醫療保健的五大特質 (2A3C), 包括: 可近性 (accessibility)、周全性的照顧 (comprehensiveness)、協調性的照顧 (coordination)、持續性的照顧 (continuity) 及負責性的照顧 (accountability)) 並鼓勵戒酒, 預期將可大大降低偏遠地區及原住民之肝病嚴重度。

基因型分析研究發現, 在檢測的到各種基因型的受試者中, 基因型 B 的比率為 75.6%, 若只單純計算基因型 B 或 C, 則基因型 B 的盛行率為 80.6%, 與之前國內學者研究調查之 80% 相同; 但在扣除離島地區 (連江縣與澎湖縣) 後, 基因型 B 的盛行率則提高為 89.1%, 則遠高於 80% [35]。在離島地區主要 59.7% 為基因型 C (連江縣 58.3% 與澎湖縣 65.8%), 台灣本島主要為基因型 B (東部 (92.7%) > 中

部 (91.22%) > 北部 (90.2%) > 南部 (82.0%))。此結果支持國內學者們的研究結果，即第二次世界大戰後由大陸遷徙來台定居的人，其基因型 C 比率較高[19]。

族群部分原住民基因型 B 比率為 92.7% 高於非原住民為 72.7% ( $p$ -value<0.05)，且每個年齡層原住民之基因型 B 盛行率皆高於非原住民，而自 40 歲起兩者之基因型 B 盛行率都開始逐歲提高，此應病況較易惡化或較早產生肝癌之 B 型肝炎病毒基因型 C 者，隨著年齡增加都較基因型 B 者提早死亡，留下的族群為天擇後病況較好的基因型 B 者，所以基因型 B 之盛行率才會逐歲提高。另外，本研究也發現預測 B 型肝炎病毒基因型為 B 的相關因子有：年齡較大者、居住在台灣本島地區、原住民、ALT 低、病毒量低、e 抗體陽性者、無肝纖維化或肝硬化者，其帶有基因型 B 的機會較高。

若再分為 e 抗原陽性與陰性兩組，原住民族群之基因型 B 比率仍較高 (83.3% 及 93.7%)；原住民族群中又以鄒族語系之基因型 B 的比率最高 97.8%，其次為排灣語系 96.4%，再者為泰雅語系 88.1%，但 3 組間未達統計上顯著相關性。而原住民族群之基因型 B 的比率高達 92.7%，推論在南島語族遷徙時，台灣原住民族群與居住在大陸東南方的南島語族的關係，比其它地區的南島語族更為密切，所以基因型 B 的比率較高；其中鄒族語系 (鄒族與魯凱族) 基因型 B 的比率又最高，父母雙方均為同一族群者高達 95.6%，推論可能其遷徙來台後地處偏遠，大多為族內通婚為主。

參與研究之 42 個鄉鎮受試者中，發現有 13 位為台灣相當罕見的 B 型肝炎病毒基因型 D，此基因型 D 常見於歐洲、南亞 (印度)、所羅門群島等地，而台灣非常稀少。其平均年齡為 49.3 歲 (男性約大於女性 10 歲)。抽血資料顯示平均 AST 與 ALT 稍微異常偏高，也有較高的 e 抗原陽性率 15.4%，平均 HBV DNA 值介於基因型 B 與 C 者平均值之間，且所有人 HBV DNA 值均 >2,000 IU/ml。另外其出生地及居住地主要集中於屏東縣，以當地排灣族居多，且問卷資料顯示雖有部

分病患曾經接受輸血、開刀、刺青或穿體洞，但無人曾共用針頭。若再加上其他與基因型 B 或 C 合併感染者，則約有 1.8% 的台灣偏遠地區與原住民 B 型肝炎患者，其體內帶有台灣較罕見的 B 型肝炎病毒基因型 D。某些地區群聚台灣較為罕見之 B 型肝炎病毒基因型 D，其感染途徑與傳播方式，非常值得未來深入社區做田野調查。



## 未來展望

本研究投入相當龐大的人力、物資與社會愛心等資源協力完成，並建立一個提昇基層醫療2A3C特色的肝病照護模式，目的是能提供政府相關單位於公共衛生政策之參考依據，因為本研究的族群完全來自於全台各地的社區族群（尤為台灣偏遠地區與原住民地區），而非執行研究所在的醫院族群，更能真實反應社區病患的現況，雖然沒有達到研究隨機抽樣的標準，但由非原住民與原住民之平均 ALT 值相近且未超過標準值來看，仍是有其代表性的意義存在。

研究發現偏遠地區原住民和基因型 C 較高的離島地區居民，有著高於非原住民或都會區居民的肝病死亡率，除了 B 型肝炎病毒的影響外，感染 C 型肝炎病毒、飲酒造成酒精性肝病、地處偏遠就醫交通不便與醫療照護貧乏等問題，更是偏遠地區及原住民肝病防治的另一個重要課題，值得國人投入心力去完成。另外，國人慢性肝病及肝硬化的死亡原因統計，未來應需進一步分析造成死亡的原因為：病毒性肝炎、酒精性肝炎或藥物等，做更細部的死因歸類，才能釐清造成原住民高肝病死亡率的真正元兇。

台灣原住民 B 型肝炎患者，研究顯示其主要病毒基因型為 B 且高達9成以上，在 B 型肝炎的病程發展與治療上相對而言都屬於預後較佳者，另外其它會影響未來罹患肝癌的危險因素，原住民族群也較非原住民族群低，是否其體內免疫力或先天個體基因差異等有別於非原住民，如：人類白血球組織抗原(human leukocyte antigen: HLA-DPA1 及 HLA-DPB1 等)、毒殺性 T 細胞 (Cytotoxic T Cell, CTL)、microRNAs (miRNA) 或 Small interfering RNA (siRNA) 等不同，是未來值得進一步研究的課題。

台灣原住民族群一直是研究領域中，學者有興趣探討的南島語族，他們在人類學的發展史上更有其不可或缺的重要地位。而台灣原住民所帶有的基因型B與世界其他國家(如：大陸東南方或其他南島語系國家)基因型B間病毒基因體的變異，

如：比較B肝家族母子間或兄弟姊妹間病毒基因的變異度及演化程度，比較台灣原住民與其他國家之南島語族病毒基因的變異度與相似度等，未來非常值得做進一步深入探討。小小面積的台灣，融合了許多的族群，除了利用文化、語言、生活習慣、考古、歷史、稻米或香蕉或檳榔或豬等生物多樣性方式來探討族群的不同，推論南島語族的遷徙路徑與演化之外，或許也可以不同地區B型肝炎病毒之基因體差異的角度，來共同探討南島語族的遷徙歷史，讓台灣的醫學人類學內容更具豐富且多元化。

再者研究也發現某些地區群聚台灣較為罕見之B型肝炎病毒基因型D，他們的感染途徑與傳播方式，未來也相當值得做進一步田野調查與研究，如：進行個別或家族訪談，了解是否有共同感染的根源（如：親屬關係、藥癮注射、刺青、穿體洞及打針文化等），並了解當地排灣族的歷史淵源是否有別於其他族群的遷徙途徑等，另外也可在這樣特殊肝病地區規劃完善的肝病照護系統，長期追蹤是否可因此降低其肝病死亡率。

台灣肝病的防治，除了B型肝炎之外，C型肝炎、酒精性肝病及脂肪肝等肝病，也都是重要的課題。未來期望能建立本研究中受試者之肝病照護模式與個案追蹤管理系統，並將此模式推廣至C型肝炎等肝病之防治，提供世界衛生組織肝病防治之參考依據。

## 英文論文簡述

### INTRODUCTION

#### Background

*Section I: The Importance of Hepatitis B in Taiwanese aborigines and non-aborigines*

There are an estimated 400 million people with hepatitis B virus (HBV) infection worldwide, of which 15-40% suffer from liver cirrhosis, hepatic failure or hepatocellular carcinoma (HCC). Every year, approximately 500,000 people die of HCC [1-4].

In Taiwan, there are approximately 5,000 people who die of chronic liver disease and liver cirrhosis, and another 7,700 people die of HCC annually. It is the second most common cancer death overall and the most common cancer death amongst the male population. HCC in Taiwan is primarily caused by HBV infection, followed by hepatitis C virus (HCV) infection and other liver diseases [5-7].

Research surveys show that about 15-20% of adults in Taiwan are HBV carriers [6, 8]. Since the government made neonatal hepatitis B vaccine injection mandatory in 1984, HBV carrier rate has dropped to about 1%, and the percentage of children suffering from HCC has been reduced significantly [9-10].

The geographical prevalence of HBV infection in Taiwan varies dramatically.

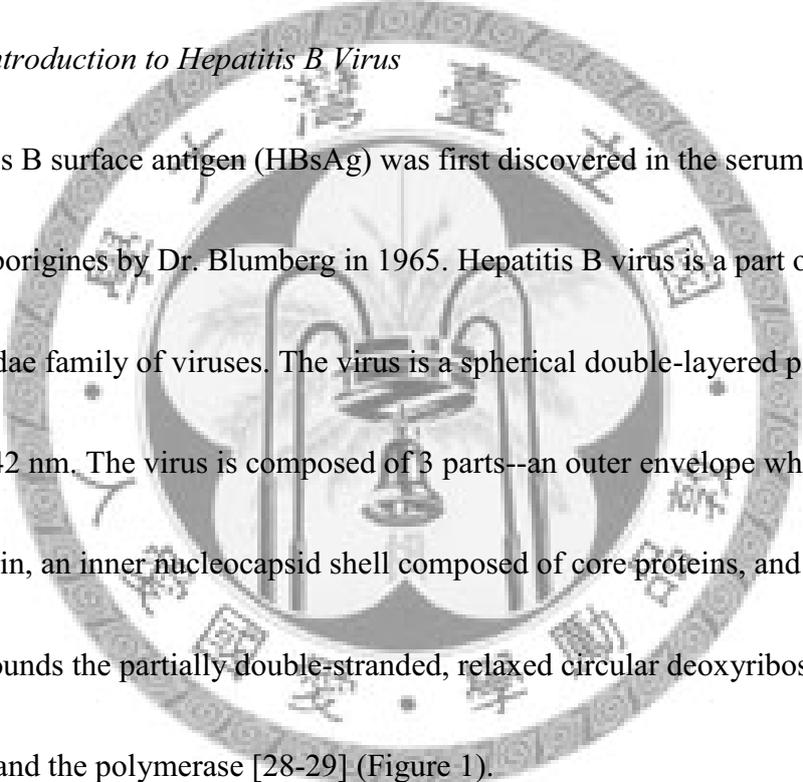
Higher mortality rates of chronic liver diseases and lower survival rates of HCC are observed in rural areas. In addition, there is a higher survival rate in the northern region compared to central and southern regions, and in urban areas compared to rural areas [7-8, 11].

In terms of ethnic groups, HBV prevalence within Taiwanese aboriginal populations is higher than Taiwan's other ethnic groups, such as the Atayal tribe. Even within the aboriginal communities, significant differences exist. Higher standardized mortality rate of chronic liver diseases and liver cirrhosis is noted in Taiwanese aborigines who have lower standardized mortality rate of HCC. Moreover, the major causes of death in 25-44 age group are chronic liver diseases and liver cirrhosis [14]. In summary, male Taiwanese aborigines, aborigines in mountain areas, the Atayal tribe and the Bunun tribe are high-risk groups for chronic liver diseases, liver cirrhosis and HCC mortality [12-14].

Recent studies indicate that many factors could increase the risk of developing into HCC in HBV carriers. These factors include: whether hepatitis B virus e-antigen (HBeAg) is positive or not; the HBV DNA viral load level; alanine aminotransferase (ALT) values; HBV genotypes, whether HBV mutates in its basal core promoter (BCP) or precore region; age; gender; etc [15-26]. Male, people with older age, and those with

abnormal ALT, HBeAg-positive, cirrhosis, high HBV DNA, genotype C, precore 1896 location free of mutation and mutations at BCP (1762/1764) are at a higher risk. The HBV virus load can be reduced by lowering the amount of virus in blood via drug treatments, as they reduce the incidence of HCC [26].

### *Section II: Introduction to Hepatitis B Virus*



Hepatitis B surface antigen (HBsAg) was first discovered in the serum of Australian aborigines by Dr. Blumberg in 1965. Hepatitis B virus is a part of the Hepadnaviridae family of viruses. The virus is a spherical double-layered particle with a diameter of 42 nm. The virus is composed of 3 parts--an outer envelope which contains surface protein, an inner nucleocapsid shell composed of core proteins, and the core particle surrounds the partially double-stranded, relaxed circular deoxyribose nucleic acid (DNA) and the polymerase [28-29] (Figure 1).

The viral DNA structure consists of one complete negative sense strand and one partial positive sense strand. The locations prone to mutation in viral replication process are precore 1896, basal core promoter, BCP T1762/A1764, and genetic defect at per-S. The annual mutation rate at these gene locations is about  $1.4 \sim 3.2 \times 10^{-5}$  per one site. The long-term evolution of the hepatitis B virus leads to the changes in hepatitis B

virology, such as the formation of many different types of genotypes, sub-genotype, gene point mutations or defects, recombinant, and so on. Studies have found that these changes interplay the risk of patients with HBV infection developing into liver cirrhosis and HCC [28, 32] (Figure 2).

### *Section III: Hepatitis B Virus Genotype Distribution and its Pathology*

Just as the members of the human race have different genes, traits, and geographic distribution, HBV likewise has various characteristics. As far as we know, up to this day there are mainly 10 types of Hepatitis B virus genotypes --A, B, C, D, E, F, G, H, I and J--listed according to the time they were identified (Figure 3).

Regional viral genotype prevalence is different around the world. In Taiwan and East Asia, genotypes B and C are most common--Genotype C is prevalent in the north of the Yangtze River while genotype B is prevalent in the south of the Yangtze River. In the Solomon Islands, there are mainly genotypes C and D. In Europe and South Asia, there are mostly genotypes A and D. In the United States and Australia, the genotype is more diverse, including A, B, C, and D. Low-incidence genotype E is mainly distributed in West Africa, F and H in Central and South America, G in the United States and Europe, and I and J in South East Asia and Japan.

In recent years, the percentage of genotypes B and C started to rise in the United States and Australia as the Asian immigrants have increased [17, 33-37].

The routes of infection may reflect HBV genotype distribution. In the regions (e.g. Taiwan) where the vertical transmission is the primary method of transmission, genotypes B and C are more common. On the other hand, in those regions where horizontal transmission (such as sexual contact, intravenous drug uses, etc.) is the primary method of transmission, genotypes A and D seem to be more common. To date, the direct correlation between the transmission pathway and the virus genotype distribution is still unclear [20, 35, 38].

In Taiwan, HBV genotypes are mostly B and C, in which genotype B is more common. In addition, the study also found that since the end of World War II in 1945, the settlers from the mainland are more probable to have higher prevalence of genotype C [16, 19, 41]. Based on statistical data collected from blood donors, the ratio of genotype B and genotype C is about 80% / 20% for hepatitis B patients. It is about 70% / 30% for asymptomatic carriers, and 60% / 40% for patients with chronic HBV infection. Once liver cirrhosis has developed, this ratio drops to 35% / 65%.

In the case of patients with HCC, the ratio is about 55% / 45% [35, 38]. As indicated, the more severe the chronic hepatitis B, the higher the incident percentage of

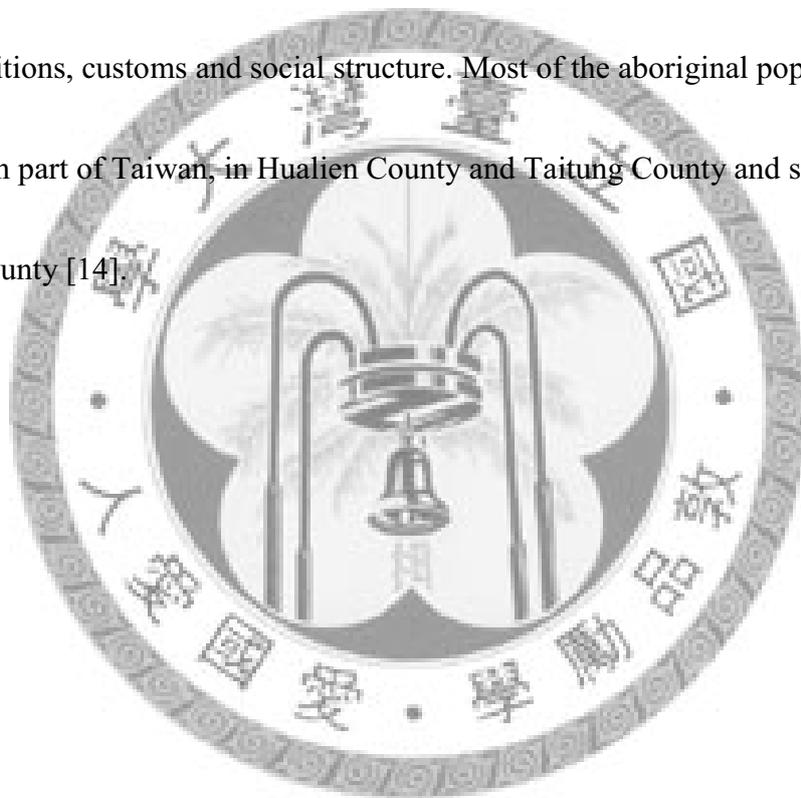
genotype C. Even though HBV genotype C is not as common in Taiwan, the prognosis of HBV genotype C infection deteriorated faster, and the risk of developing into cirrhosis and HCC is relatively higher. In addition, its success rate of interferon treatment is lower and it has a higher HBV relapse rate post Lamivudine treatment [16, 27, 41-43].

#### *Section IV: Different ethnic groups in Taiwan*

Taiwan has had a long history of immigration, and is said to be the place of origin of many Austronesian groups. Currently there are four main ethnic groups in Taiwan: native Taiwanese (Hō-Lóh-Lang), the Hakka people, the mainlanders (those who came to Taiwan after 1945 and their descendants) and the aborigines that belong to the Austronesian language groups [44]. The Austronesians are widely distributed in the world, from the Easter Island (east) to Madagascar (west), and from New Zealand (south) to Taiwan (north) [49-51] (Figure 4).

Native Taiwanese, the Hakka people and the mainlanders are non-aborigines and have different cultures and ancestors, who immigrated from the mainland China at different time periods, dating back to the 15th century. These immigrants also intermarried with the aboriginal populations. .

Currently there are about 0.5 million aborigines in Taiwan, about 2% of the total population. So far 14 tribes have been recognized by the government and they are divided into four main language groups: Atayal (Atayal, Truku and Sediq tribe); Paiwan (Amis, Paiwan, Puyuma, Bunun, Saisiyat, Thao, Kavalan and Sakizaya tribe); Tsou (Tsou and Rukai tribe); Bataan (Yami tribe). Each tribe has its own distinct language, culture, traditions, customs and social structure. Most of the aboriginal population lives in the eastern part of Taiwan, in Hualien County and Taitung County and some live in Pingtung County [14].



## Objective

As discussed in the background, in Taiwan there are clear regional and ethnic differences in terms of prevalence of HBV infection, standardized mortality rate of liver cirrhosis and HCC, and survival rate of HCC. Furthermore, some studies show that those with certain characteristics run a higher risk of developing liver cirrhosis and HCC: people with HBV infection and ALT abnormalities; HBeAg-positive; people with a higher HBV DNA, older age; those who have HBV genotype C.

Therefore, the following hypothesis is proposed, that the cause for the Taiwanese aborigines to have higher standardized mortality rate of chronic liver diseases and liver cirrhosis and lower standardized mortality rate of HCC may be similar to the Japanese study in Okinawa. The reason for the lower mortality rate of HCC in high HBV epidemic area is that the mainly HBV genotype is B that has the lower risk of HCC [54].

We then assume that within the same community in rural areas, Taiwanese aborigines and non-aborigines would have different HBV genotypes, HBV DNA, HBeAg-positive rate, etc. In order to provide a reference for future medical care and public health policy in Taiwan, this thesis explores the impact of regional and ethnic differences on the risk of HCC. In addition, the impact of medical environment, medical

care system, living habits, and socio-economic status have also been studied.

The migration path of Austronesian language in the Pacific and the Indian oceans is very important for the development of human civilization in world history. A recent popular hypothesis is that Taiwan is the origin of all Austronesian languages,

highlighting the importance of Taiwan in the Austronesian migration path. From a

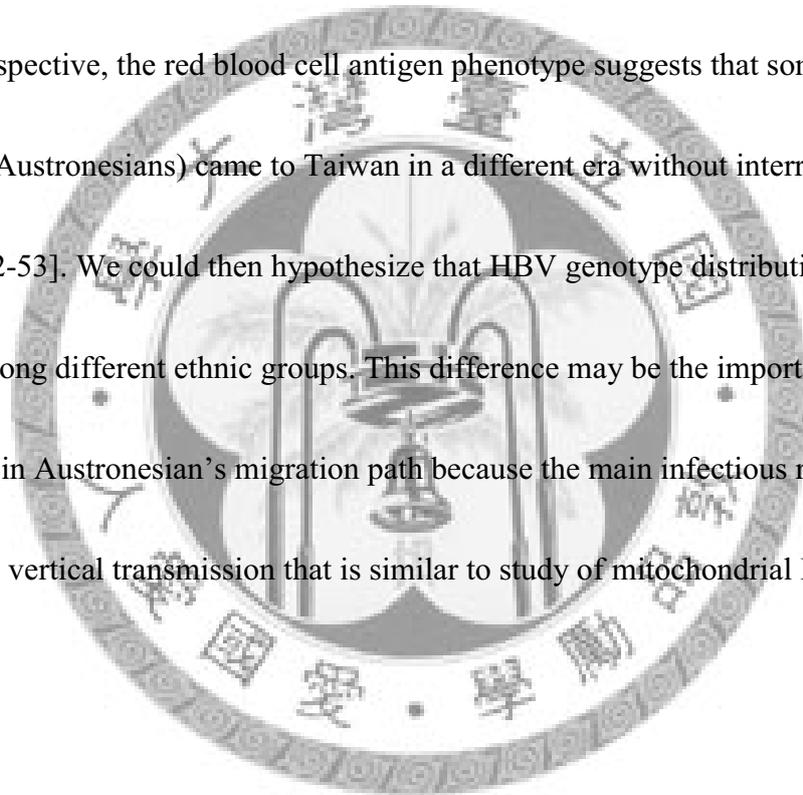
genetics perspective, the red blood cell antigen phenotype suggests that some Taiwanese aborigines (Austronesians) came to Taiwan in a different era without interracial

marriage [52-53]. We could then hypothesize that HBV genotype distribution is

different among different ethnic groups. This difference may be the important

information in Austronesian's migration path because the main infectious root of HBV

in Taiwan is vertical transmission that is similar to study of mitochondrial DNA.



## METHODS

### Chapter I: Interviewee Selection Criteria

There are two main sources of patients with HBV infection:

1. Screened HBsAg-positive patients from the voluntary population in the Liver Disease Prevention and Treatment Research Foundation in the past 10 years who were born before January 1, 1985.
2. Listed HBV carriers (HBsAg-positive) by the health agencies from the comprehensive health screening activities at district health clinics or local medical institutions.

HBV carriers include people in the northern, central, southern, eastern and outlying islands of the rural areas in Taiwan and from various ethnic groups. Gender and occupation were not forcefully selected. All of the interviewees who were thoroughly informed about the study processes must agree to participate in the study, sign and date

the consent form (approved by National Taiwan University Hospital Research Ethics

Committee on March 3, 2008, Clinical trials research project No: Protocol ID:

200801059R (ClinicalTrials.gov ID: NCT00946010) with study completion date on

January 31, 2011) (Appendix 1).

## Chapter II: Research Design and Process

### *Section I: Activity Design and Procedure*

Coordinated between the professionals of the Liver Disease Prevention and Treatment Research Foundation and the staff of the local health administrative department, the well-trained interviewers conducted standardized surveys to collect basic background information (Figure 5) such as body height (cm), body weight (kg), waist circumference (cm) measurements, specimen samples and abdominal ultrasound examination. These interviewers also provide liver disease consultation (Figure 6).

The standard procedure to measure the waist circumference is based on the recommendations of the National Health Council. The examinee must remove the clothing covering the waist, relax and stand with arms naturally down. The examiner will take the measure using the measuring tape around the examinee's waist at the mid-point between the lowest rib and the top of the iliac crest at the end of the examinee's exhale. Meanwhile, the measuring tape must be maintained horizontally, and is not too tight or too loose on the skin.

Once the examination is completed, the participant will receive their own reports, a HBV infection education manual by surface mail and contact information for consultations services. At the same time, the participants' information is forwarded to

relevant health agencies to provide regular follow-up activities. For those patients requiring emergency treatment, appropriate medical care referral is provided by the professional nurse service.

### *Section II: Analysis of samples*

Collected HBsAg-positive samples are only given a numerical identification, without participants' background information, to protect patients' privacy. According to the principle of confidentiality by National Taiwan University Hospital Research Ethics Committee, all publication will remain anonymous.

The viral nucleic acid was extracted using the Viral DNA purification kit (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen Inc.). The amount of HBV DNA was detected by real-time PCR method to realize the viral load of each sample that was adjusted by Macrometrix standard solution with  $R^2 = 0.98-1.0$  and the detection range is  $50 \sim 2 \times 10^9$  IU/ml. The specific primers bound to preS2/S (NC003977) and the sequences are shown as below[55] :

5'-AGTGGCCTCAGTCCGTTT-3' (forward) and

5'-AGCCCTACGAACCACTGGAACA-3' (reverse) ,

(FAM)-5'-TCCTGGCTCAGTTTACTAGTGCCA-3'- (TAMRA) ,

The nested PCR and multiplex PCR method were used for examination of the HBV genotype. Primer HBV-2821F and HBV-2437R were used in first PCR to amplify the DNA products. Then the HBV genotype-specific primers for multiplex PCR were used in second PCR. The sequences of the primers are shown as Table 1 [56-58]. Ten microliters amplified DNA were electrophoresed on 2% agarose gel in TAE buffer at 125 V for 25 min, stained with ethidium bromide and visualized under UV light. DNA fragment sizes were determined by using DNA molecular weight markers.

In order to double-check the accuracy of HBV genotypes, full-length sequences of some samples were performed[59]. The primers of PCR are shown as Table 2 purified the PCR products by the commercial kit (GFX™ Polymerase Chain Reaction DNA and Gel Band Purification Kit, Amersham Biosciences, GE Healthcare, USA). Then, added the specific primers (Table 2) to perform 6 sections of fulllength sequences that were combined by DNA STAR Lasergene® v8.0 SeqMan Pro. The results of genotypes analyzed by two methods shown above were the same.

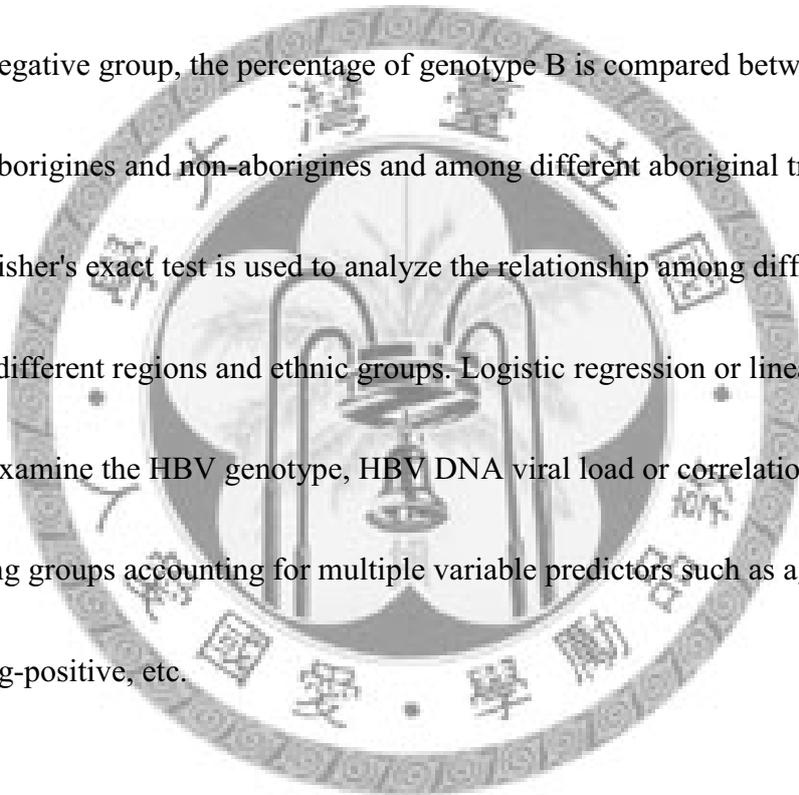
### Chapter III: Statistical Methods

Normal distribution analysis of the collected basic information, surveys, HBV genotype, and the abdominal ultrasound from the participants is performed using statistical software such as Excel, STATA or SAS. The parameters include: age, sex, body height, body weight, waist circumference, place of birth, place of residence, ethnicity, parents' place of birth, parents' place of residence, parents' ethnicity, blood transfusion history, surgical history, tattoos, piercings, experience of sharing needles with others, drinking habits (frequency: every day or once per 2-3 days), genotype distribution, ASL, ALT, HBeAg-positive rate, anti-HBe positive rate, presence of fatty liver (increased brightness echotexture), liver cirrhosis (coarse echotexture, nodular surface and irregularly narrowed right hepatic vein), etc.

The standard value of AST is set at <37 U/L for male, and <31 U/L for female. The standard value of ALT is set at <41 U/L for male, and <31 U/L for female. The cut point of abnormal ALT defines >40 U/L. Promulgated by American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) and the Asia-Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) in 2008, while the cut point of HBV DNA for treatment is set to be greater than 2,000 IU/ml for HBeAg-negative chronic hepatitis B and 20,000 IU/ml for HBeAg-positive disease. Place of birth and residence was divided into northern, central,

south, east, Islands and others. Aboriginal population was divided into four major language groups.

Finally, all the participants are divided into Taiwanese Aborigines and non-aborigines for comparison. From the available genotype database, the data is grouped into genotypes B and C for comparison. Furthermore, within the HBeAg positive or negative group, the percentage of genotype B is compared between Taiwanese aborigines and non-aborigines and among different aboriginal tribes.  $\chi^2$  test or t-test or Fisher's exact test is used to analyze the relationship among different variables in different regions and ethnic groups. Logistic regression or linear regression are used to examine the HBV genotype, HBV DNA viral load or correlation of other factors among groups accounting for multiple variable predictors such as age, gender, ALT, HBeAg-positive, etc.



## RESULTS

### Chapter I: Analysis of Baseline Characteristics and Lab Results

A total of 3,488 patients with HBV infection in rural community were recruited from 42 various townships in Taiwan. All patients signed consents, filled out forms for basic information and had their lab data drawn. Among them, 2,663 patients also received abdominal ultrasound examination.

The male/female ratio was about 1:1, with 1,720 men and 1,768 women. The average age was 50.7 years old and the average Body Mass Index (BMI) was 26.1 Kg/m<sup>2</sup>.

The average aspartate aminotransferase (AST) was 34 U/L, and the average alanine transaminase (ALT) was 39 U/L. About 8% (280/3,488 persons) of all patients had HBeAg-positive, and 22 patients (0.6%) had abnormal alpha fetoprotein (AFP) result, which was greater than 20 ng/ml. The average HBV DNA was 25,340,981 IU/ml, with 29% (1,012/3,488 persons) patients had undetectable viral load in their blood, 67.4% (2,349/3,488 persons) patients had less than 2,000 IU/ml and 32.6% (1,139/3,488 persons) patients had greater than 2,000 IU/ml (17.8% (621/3,488 persons) had greater than 20,000 IU/ml).

We also analyzed the data of 1,178 patients, by linear regression, and try to find

the correlation between HBV DNA viral load and other factors, such as age, gender, fatty liver, parenchymal liver disease or liver cirrhosis, HBeAg-positive, AST, ALT, HBV genotype, BMI, drinking habits, parent's ethnicity, blood transfusion history, surgery history, tattoos, piercings and experience of sharing needles with others.

Significance was found regarding age, HBeAg-positive, HBV genotype and parents' ethnicity. Under correcting age and gender, higher HBV DNA viral load were significantly increased with HBeAg-positive ( $\beta$  distribution: 0.271 ,  $p$ -value<0.001) and genotype C ( $\beta$  distribution: 0.175 ,  $p$ -value<0.001).

In regards to their ethnic and geographic background, 56.2% (1,961/3,488 persons) of the patients were non-aborigines. Among the aborigines, 42% were Paiwan, 35.2% were Atayal, 22.4% were Tsou, and 0.3% were Bataan. 31.5% of the patients were born in southern Taiwan, 24.8% were born in central Taiwan, 18.9% in eastern Taiwan, 18.0% in outlying islands, 5.5% in northern Taiwan and 1.3% in other regions. Their place of residence had similar trend with where they were born. About 14.7% (502/3,413 persons) patients had received blood transfusion; 49.2% (1,694/3,446 persons) of them have had surgeries; 29.2% (1,003/3,435 persons) had tattoo or piercings; 7.0% (239/3,421 persons) had shared needles with others and about 27.9% patients had drinking habits.

In the abdominal ultrasound results, 52% patients had fatty liver, and 2.9% had liver cirrhosis. We stratified patients into aborigines (1,527 patients) and non-aborigines (1,961 patients). Patients were included in the aborigine subgroup as long as one of their parents was aborigine. We did not find any patients who were from the Saisiyat or Kavalan tribe. Native Taiwanese, Hakka and Mainlanders were included in the non-aborigine subgroup. The baseline characteristics and lab results of two subgroups were shown in Table 3:

1. The male/female ratio was higher in non-aborigine group than in aborigine group (1.2 vs. 0.8). HBeAg-positive rate was also higher in non-aborigine group (10.2% vs. 5.3%). Both the average HBV DNA and the ratio of HBV DNA greater than 2,000 IU/ml were higher in the non-aborigine group (36.7% vs. 27.4%). *p*-values were tested to be less than 0.0001 in all four variables using  $\chi^2$  or t-test, making them statistically significantly different.

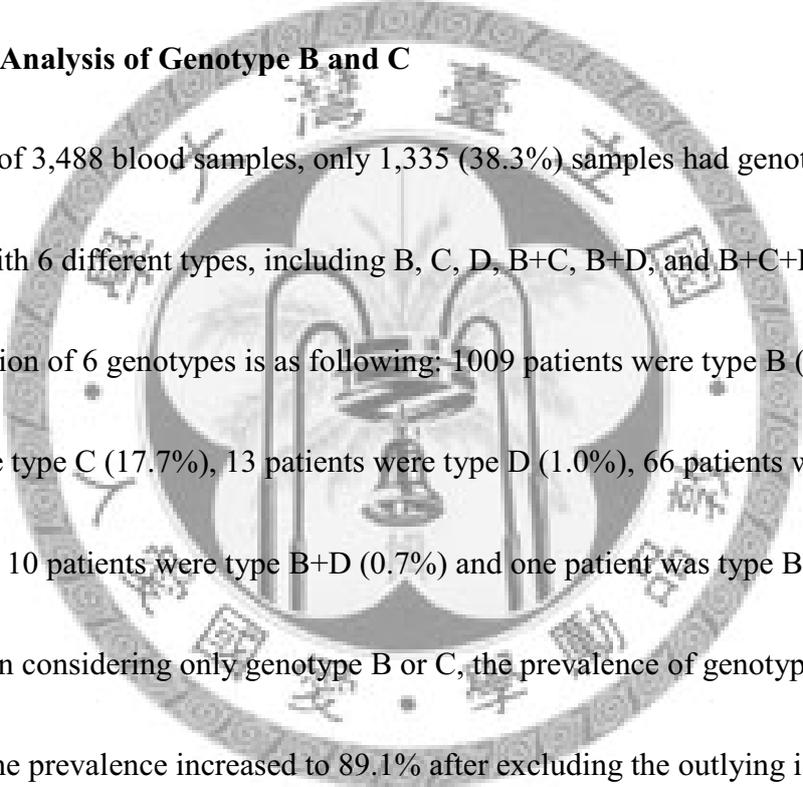
2. Average AST was higher in the aborigine group than the non-aborigine (37.6 vs. 31.6 U/L). The ratio of patients with drinking habit was much higher in the aborigine group (40.0% vs. 19.3%). *p*-values were tested to be less than 0.0001 in these two variables using  $\chi^2$  or t-test, making them statistically significantly different.

3. The average age in both groups was about 50 years old and the average ALT in

both groups were 39 U/L, with no statistically significant differences.

Comparing the abdominal ultrasound results, the ratio of patients with fatty liver was higher in the aborigine group (55.2% vs. 50.3%,  $p$ -value=0.017) and both groups had similar ratio of patients with liver parenchymal disease or liver cirrhosis (29%).

## **Chapter II: Analysis of Genotype B and C**



In total of 3,488 blood samples, only 1,335 (38.3%) samples had genotype results from PCR with 6 different types, including B, C, D, B+C, B+D, and B+C+D (Fig.7). The distribution of 6 genotypes is as following: 1009 patients were type B (75.6%), 236 patients were type C (17.7%), 13 patients were type D (1.0%), 66 patients were type B+C (4.9%), 10 patients were type B+D (0.7%) and one patient was type B+C+D (0.1%). When considering only genotype B or C, the prevalence of genotype B was 80.6%, but the prevalence increased to 89.1% after excluding the outlying islands (34.2% (13/38 persons) in Penghu County and 41.7% (70/168 persons) in Lienchiang County). When analyzing prevalence according to areas, the prevalence of genotype B was 92.7% in the east, 91.22% in the central, 90.2% in the north, 82.0% in the south and 40.3% in the outlying islands.

We stratified these 1,185 patients into genotype B group and genotype C group.

The average age was older in genotype B group than in genotype C group (50.3 vs. 48.1 year-old); HBeAg-positive rate was lower in genotype B group (10.3% vs. 37.4%); both the average ALT and the ratio of abnormal ALT values were lower in genotype B group (44 vs. 54 U/L, 35.7% vs. 43%); both the average HBV DNA and the ratio of HBV DNA greater than 2,000 IU/ml were lower in genotype B group. Furthermore, *p*-values were found to be less than 0.05 in all four variables using  $\chi^2$  or t-test, making them statistically significantly different (Table 4).

Investigating related risk factors for genotype B using logistic regression, we found that patients who were older (odds ratio [OR]= 1.014, 95% confidence interval [CI]= 1.003-1.025, *p*-value=0.0161), who did not live in off-shore islands, who were aborigines (especially Tsou language with OR=24.026, 95% confidence interval [CI]=3.315-174.143, *p*-value=0.0017), who had lower ALT, lower HBV DNA, or positive anti-HBe (odds ratio [OR]=5.691, 95% confidence interval [CI]= 3.899-8.306, *p*-value<0.0001) had higher chance of being genotype B.

### **Chapter III: Analysis of Genotype B and C in Aborigines and Non-aborigines groups**

We analyzed 1,178 patients who had complete genotype B or C and positive or negative HBeAg and stratified them into aborigines and non-aborigines. The prevalence of genotype B in aborigine group was higher (92.7%) than in non-aborigine group (72.7%; 82.2% if minus Lienchiang County; 74.9% if minus Penghu County; 85.6% if minus Lienchiang and Penghu Counties) with statistically significant differences ( $p$ -value<0.05). If we stratified patients further into positive or negative HBeAg groups, in HBeAg-positive group (n=188), the prevalence of genotype B was lower in non-aborigine group (44.5% vs. 83.3%); in HBeAg-negative group (n=990), the prevalence of type B was lower in non-aborigine group (80.0% vs. 93.7%).  $p$ -values were all less than 0.0001 using  $\chi^2$  test, resulting in statistically significant differences (Table 5).

In 467 aborigines who had complete genotype B or C and positive or negative HBeAg results, we stratified them into four different language groups: Atayal, Paiwan, Tsou, and Bataan, with no patients that are from the Bataan. The prevalence of genotype B was the highest in Tsou (97.8%), then Paiwan (96.4%), and the last was Atayal (88.1%), but with no statistically significant differences ( $p$ -value=0.182). We further stratified patients into positive and negative HBeAg groups. When analyzing patients in HBeAg-positive group (n=42), the prevalence of genotype B was the highest in Paiwan

(89.5%), then Atayal (66.7%) without reaching statistically significant difference ( $p$ -value=0.0775). In patients with HBeAg-negative ( $n=425$ ), the prevalence of genotype B was over 90% with the highest in Tsou (97.9%), then Paiwan (97.1%) and Atayal (89.7%), with  $p$ -value of 0.0054 using  $\chi^2$  test (Table 6).

If we compared the relationship between non-aborigines and aborigines by age groups, the prevalence of genotype B in aborigines was significant higher than non-aborigines no matter in which age group. In addition, the prevalence of genotype B statistically significantly increased since 40 years old in the both groups that tested by Fisher test or  $\chi^2$  test with  $p$ -value  $<0.05$  (Figure 8).

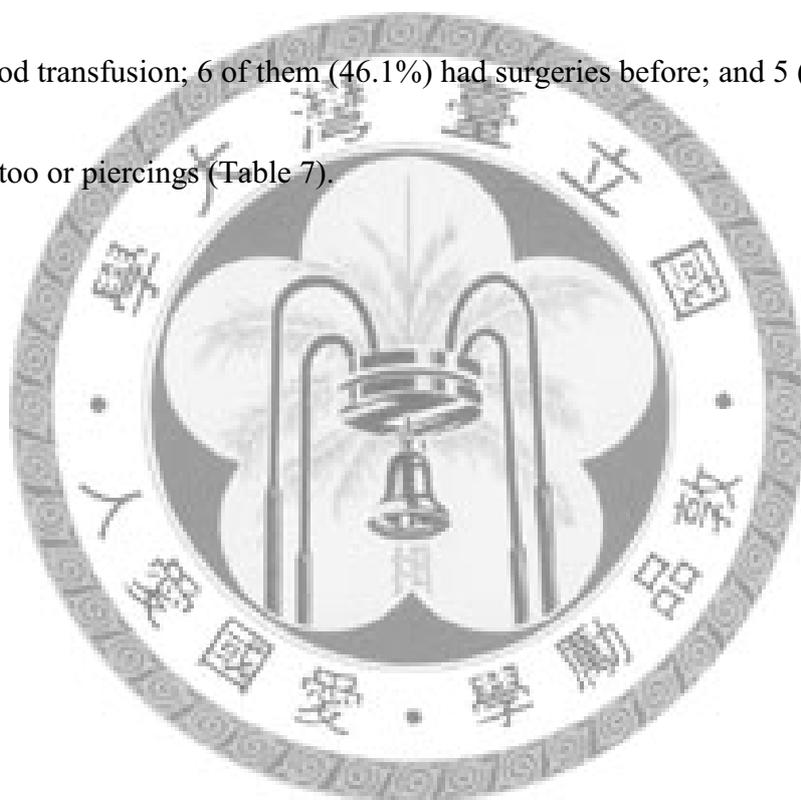
#### **Chapter IV: Analysis of Baseline Characteristics and Lab results of Genotype D**

Our research found 13 patients with genotype D, which was quite rare in Taiwan. The male/female ratio was 0.86:1, and the average age was 49.3 year-old (male/female: 54.5/44.9 year-old) without big differences from the average age in patients with genotype B or C.

The lab results were as following: average AST was 67 U/L, average ALT was 43 U/L, average AFP was 11 ng/ml, the rate for abnormal AFP was 16.7%, HBeAg-positive rate was 15.4%, the average HBV DNA was 10,309,203 IU/ml and the

rate for HBV DNA greater than 2,000 IU/ml was 100%.

The places of birth and residence were almost all in Pingtung County. Only one of them lives in Chiayi County. Twelve of the total 13 patients were aborigines: 10 of them were Paiwan tribe and other 3 were Rukai tribe, Tsou tribe and non-aborigine. All of them indicated that they did not shared needles with others; 2 (15.4%) of them had received blood transfusion; 6 of them (46.1%) had surgeries before; and 5 (38.5%) of them had tattoo or piercings (Table 7).



## DISCUSSIONS

This research found that among patients with HBV infection in Taiwan, the aborigines had fewer risk factors for HCC than the non-aborigines, such as lower HBeAg-positive rate (5.3% vs. 10.2%,  $p$ -value<0.0001), lower average HBV DNA viral load, lower rate to have HBV DNA greater than 2,000 IU/ml (27.4% vs. 36.7%,  $p$ -value<0.0001) and higher prevalence for genotype B (92.7% vs. 72.7%,  $p$ -value<0.05). Those patients with HBV infection who lived on outlying islands (34.2% in Penghu County and 41.7% in Lienchiang County) mainly had genotype C (60%) and patients who lived on the main island mostly had genotype B (89%). The prevalence of genotype B in the aborigines group was significantly higher than in the non-aborigines group (92.7%), especially the Tsou and the Paiwan, which was about 97%. Furthermore, our research found 13 patients with genotype D, a very rare genotype in Taiwan. Patients with genotype D were clustered in the local Paiwan tribe of Pingtung County. These subjects had higher HBV DNA (greater than 2,000 IU/ml) without the experience of sharing needles with others and some of them had received blood transfusion or surgeries or tattoo or piercings.

Domestic research found that risk factors among patients with HBV infection for HCC included male, elderly age, abnormal ALT value, HBeAg- positive result, liver

cirrhosis, higher HBV DNA viral load, genotype C, no mutation on precore 1896 and mutation on BCP (1762/1764) [26]. This research showed that among asymptomatic HBV carriers who lived in the rural areas in Taiwan, the HBeAg-positive rate was 8%, with higher rate in the non-aborigine group than in the aborigine group (10.2% vs. 5.3%,  $p$ -value<0.0001). This is much lower than the findings from other studies on asymptomatic HBV carriers (20%) [60]. There were no significant differences between the ALT values of the non-aborigines and that of the aborigines. However, the average AST value and the rate of having a drinking habit were both higher in the aborigine group, and therefore it was presumed that the high AST might be resulted from drinking habit.

In addition, 29% of the HBV carriers had no detectable HBV DNA viral load in their blood, and 32.7% of them had HBV DNA greater than 2,000 IU/ml. Both the average viral load and the rate of HBV DNA greater than 2,000 IU/ml were higher in the non-aborigine group than in the aborigine group (36.7% vs. 27.4%,  $p$ -value<0.0001). Regardless of HBeAg being negative or positive, the aborigines had much higher possibilities of being genotype B than the non-aborigines in any age group (HBeAg-positive group: 83.3% vs. 44.5%,  $p$ -value<0.0001; HBeAg- negative group: 93.7% vs. 80.0%,  $p$ -value<0.0001). Due to above-mentioned factors, Taiwanese aborigines, who

are part of the world Austronesian population and have lower risk of HCC than non-aborigines, may have different specific immune system or genetic factors from non-aborigines. This may result in stronger immunity against HBV.

Researches have shown that patients with HBV infection have higher risks for liver cirrhosis and HCC and HBV infection, which is the main reason for HCC [1, 61].

According to statistics from the Department of Health, the standardized mortality rate of chronic liver diseases and liver cirrhosis--which is the mainly cause of death in aborigines with age of 25-44 year-old--have been higher in the rural areas or in the aborigines who also have shorter life span (68.5 years vs. 77.9 years) than in the whole country. Yet the standardized mortality rate of HCC is lower in aborigines [7, 14]. In addition, our research found that the aborigines with HBV infection had fewer risk factors for HCC, higher average AST and higher rate of drinking habit (40%) than the non-aborigines. Hence, the main causes for the aborigines dying from chronic liver diseases are alcoholic hepatitis or other hepatitis, but not hepatitis B infection. Furthermore, the aborigines live in rural areas, where transportation is inconvenient, medical resource scarce, and health-care system inadequate. These may all be contributing factors for death from chronic liver diseases.

Therefore, it is predicted that if we can provide easier medical access in rural areas,

promote the 2A3C of community health care system (accessibility, accountability, comprehensiveness, coordination and continuity) and encourage people to quit drinking, it may greatly decrease the severity of liver diseases of the aborigines and in rural areas.

The analysis of genotypes found out that in subjects with all kinds of genotype, the prevalence of genotype B was 75.6%. If we simply calculated genotype B or C, the prevalence of genotype B was 80.6%, which was similar to the 80% from the domestic researches. However, if we deducted people from outlying islands (Lienchiang County and Penghu County), the prevalence of genotype B was raised to 89.1%, which was much higher than 80% [35]. The main genotype in the outlying islands (58.3% in Lienchiang County and 65.8% in Penghu County) was C (59.7%), and the main genotype in the main island was B (East [92.7%] > Central [91.22%] > North [90.2%] > South [82.0%]). This result was consistent with the results from other domestic researches, which was that people who immigrated from the mainland China to Taiwan after World War II had higher possibility to have genotype C [19].

The rate of genotype B was higher in the aborigine group (92.7%) than in the non-aborigine group (72.7%) with  $p$ -value<0.05 in any age group. It has also been indicated that the prevalence of genotype B had been increasing from age 40 onward in both the aborigine group and the non-aborigine group. Therefore it was presumed that

with aging, patients with more severe liver diseases (e.g. genotype C) had died early with being selected naturally, no matter if they are aborigines or not. Therefore, the higher prevalence of HBV genotype B is found in the elders.

If we further stratified the patients into HBeAg-positive and HBeAg-negative groups, the prevalence of genotype B was still higher in the aborigine group (83.3% and 93.7%). Among the aborigines, the prevalence of genotype B was the highest in the Tsou (97.8%), then in the Paiwan (96.4%), and then in the Atayal (88.1%), with no statistically significant differences. The reason for the prevalence of genotype B in the aborigines to be as high as 92.7% was presumed to be because when the Austronesian peoples immigrated, the aborigines in Taiwan had a closer relationship with the Austronesian people who lived in the southeast of mainland China than the other areas. The reasons for the prevalent rate of genotype B to be the highest in the Tsou people (Tsou and Rukai tribe) were presumed to be because they lived in very remote areas after immigrated to Taiwan, the rate of both parents being in the same tribe was as high as 95.6%, and that they mostly married within the same tribe.

After we recruited patients from 42 townships in Taiwan, we found 13 patients with genotype D, which was rather rare in Taiwan. Genotype D is common in Europe, South Asia (India), and the Solomon islands, but very rare in Taiwan. The average age

of these 13 patients was 49.3 years old (the male patients were about 10 years older than the female patients). The lab results showed that the average AST and ALT were unusually high, the rate for HBeAg-positive was high (15.4%), the average HBV DNA was between genotype B and C, and all of them had HBV DNA greater than 2,000 IU/ml. Some very interesting findings include that they were almost clustered in the local Paiwan tribe of Pingtung County. The questionnaire showed that all of them did not share needles with others in the past and some of them had received blood transfusion or surgeries or tattoo or piercings. In addition, combining with patients with genotype B or C co-infection, among all these patients with HBV infection in rural areas of Taiwan, about 1.8% of them had genotype D. Would this rare genotype be related to the history of family relationship or body fluid or blood transmission? Where did this rare HBV genotype D come from? How would it be transmitted into Taiwan? These are all issues that are worth investigating in a cluster of patients with HBV genotype D found in the local area of southern Taiwan.

## FUTURE PROSPECTS

It took a great deal of manpower, resources and compassion to complete this research and to build a liver disease caring model which promotes the 2A3C characteristics of community health care system. The goal is to provide governmental organizations a reference in regards to public health policy. The patient population of this research was from the community in Taiwan, especially from the rural areas and the aborigine areas, and not from the hospitals, therefore it could reflect the true conditions of patients in the community. Although the research did not reach the standard of randomization, from the average ALT values of the non-aborigines and the aborigines being so close and not over the reference values, the patient samples were still quite representative of population in Taiwan.

Comparing to the non-aborigine or the urban areas, this research found a higher mortality rate from liver diseases in the rural aborigine areas and the outlying islands which had more genotype C. Besides the affect from HBV infection, the problems of HCV infection, alcoholic liver disease due to alcohol abuse, the inconvenient transportation hindering medical access and the scarcity of health care resources are all important issues that should be addressed in the prevention of liver diseases in rural areas and in the aboriginal communities, and deserve more attention. On the

other hand, the causes of death from chronic liver disease and liver cirrhosis of Taiwanese need to be further categorized into specific viral hepatitis, alcoholic hepatitis or drugs related hepatitis, so as to better understand the fundamental reasons for high mortality rate of liver disease amongst the aborigines.

Research showed that more than 90% of Taiwanese aborigines with HBV infection had genotype B, which had better prognosis in the development of disease and treatment. The reasons for the aborigines to have fewer other risk factors for liver disease may be because the innate differences in immunity or genes, such as human leukocyte antigen (HLA-DPA1 and HLA-DPB1), cytotoxic T cell, microRNAs or small interfering RNA. These are all topics worth further investigating in the future.

Taiwanese aborigines are one of the Austronesian people that have interested researchers and cannot be missed in the history of anthropology. The differences of the genotype B carried by the Taiwanese aborigines from the genotype B carried by the other countries (such as the southeastern China or other Austronesian countries), such as the differences and similarities of viral genes between brothers and sisters or between mothers and children in the same family, are all worth further investigating in the future. There are many different ethnic groups in the small islands of Taiwan. Besides looking into the different cultures, languages, life habits, archaeology,

history, or different kinds of life styles, such as rice, banana, betel or pigs, there are also other methods to enrich Taiwanese medical anthropology. For example, studying the differences of HBV genes may provide the information for investigating the immigrating history of Austronesian groups.

Furthermore, this research also found the rare HBV genotype D in Taiwan, which clustered in the local Paiwan tribe of Pingtung County. The way they are transmitted and infected is worth further field investigation and research, such as personal or family interview to understand if there is a common source of infection (such as family relationship, drug injection, tattoo, or piercings), and to understand if there is any difference in the history of Paiwan tribe in immigration pattern. A complete caring system for liver disease is also needed in this special area to track if it can decrease mortality from liver diseases in the long term.

Besides hepatitis B, hepatitis C, alcoholic hepatitis and fatty liver are all important issues in the prevention of liver diseases in Taiwan. We hope to establish a caring model of patients with liver diseases and a follow-up system to manage each cause, to promote this model in treating and preventing of all the other liver diseases such as HCV infection and alcoholic hepatitis, and to provide a reference for the world-wide health organizations in treating and preventing liver diseases.

## 參考文獻

- 1 Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect Dis.* 2002; 2(7):395-403.
- 2 Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med.* 1997; 337(24):1733-45.
- 3 Beasley RP. Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 1988; 61(10):1942-56.
- 4 Sorrell MF, Belongia EA, Costa J, *et al.* National Institutes of Health consensus development conference statement: management of hepatitis B. *Hepatology.* 2009; 49(5 Suppl):S4-S12.
- 5 Chen DS. Hepatitis C virus in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Princess Takamatsu Symp.* 1995; 25:27-32.
- 6 Chen DS. From hepatitis to hepatoma: lessons from type B viral hepatitis. *Science.* 1993; 262(5132):369-70.
- 7 Department of Health Taiwan. Cause of Death Statistics. Available at <http://www.doh.gov.tw/>. 2009.
- 8 Chen CH, Yang PM, Huang GT, Lee HS, Sung JL, Sheu JC. Estimation of seroprevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus in Taiwan from a large-scale survey of free hepatitis screening participants. *J Formos Med Assoc.* 2007; 106(2):148-55.
- 9 Chang MH, Chen CJ, Lai MS, *et al.* Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. *N Engl J Med.* 1997; 336(26):1855-9.
- 10 Ni YH, Chang MH, Huang LM, *et al.* Hepatitis B virus infection in children and adolescents in a hyperendemic area: 15 years after mass hepatitis B vaccination. *Ann Intern Med.* 2001; 135(9):796-800.
- 11 Chen CH, Su WW, Yang SS, *et al.* Long-term trends and geographic variations in the survival of patients with hepatocellular carcinoma: analysis of 11,312 patients in Taiwan. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006; 21(10):1561-6.
- 12 Lin HH, Li YH, Yu JH, *et al.* Ethnic and geographic variations in the prevalence of hepatitis A, B and C among aboriginal villages in Hualien, Taiwan. *Infection.* 2000; 28(4):205-8.
- 13 Wang LY, Hu CT, Ho TY, Lin HH. Geographic and ethnic variations of long-term efficacy and immunogenicity of hepatitis B vaccination in Hualien, a HBV hyperendemic area. *Vaccine.* 2006; 24(20):4427-32.
- 14 Council of Indigenous Peoples Taiwan. Annual Statistic Report of Health and

Population in Taiwanese Aborigines in 2006 and 2007. Available at <http://www.apc.gov.tw/>. 2009.

- 15 Yu MW, Yeh SH, Chen PJ, *et al.* Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97(4):265-72.
- 16 Chen JD, Liu CJ, Lee PH, *et al.* Hepatitis B genotypes correlate with tumor recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2004; 2(1):64-71.
- 17 Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology.* 2000; 118(3):554-9.
- 18 Tseng TC, Liu CJ, Chen PJ, *et al.* Subgenotypes of hepatitis B virus genotype C do not correlate with disease progression of chronic hepatitis B in Taiwan. *Liver Int.* 2007; 27(7):983-8.
- 19 Liu CJ, Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Molecular epidemiology of hepatitis B viral serotypes and genotypes in taiwan. *Journal of biomedical science.* 2002; 9(2):166-70.
- 20 Kao JH. Hepatitis B viral genotypes: clinical relevance and molecular characteristics. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002; 17(6):643-50.
- 21 Iloeje UH, Yang HI, Jen CL, *et al.* Risk and predictors of mortality associated with chronic hepatitis B infection. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007; 5(8):921-31.
- 22 Chen CJ, Iloeje UH, Yang HI. Long-Term Outcomes in Hepatitis B: The REVEAL-HBV Study. *Clin Liver Dis.* 2007; 11(4):797-816.
- 23 Huang YW, Lin CL, Chen PJ, Lai MY, Kao JH, Chen DS. Hepatitis B viral genotype in Taiwanese patients with acute hepatitis B. *Hepatogastroenterology.* 2008; 55(82-83):633-5.
- 24 Lin CL, Kao JH. Hepatitis B viral factors and clinical outcomes of chronic hepatitis B. *Journal of biomedical science.* 2008; 15(2):137-45.
- 25 Tseng TC, Kao JH. HBV genotype and clinical outcome of chronic hepatitis B: facts and puzzles. *Gastroenterology.* 2008; 134(4):1272-3; author reply 3.
- 26 Yang HI, Yeh SH, Chen PJ, *et al.* Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2008; 100(16):1134-43.
- 27 Kao J-H. Role of viral factors in the natural course and therapy of chronic hepatitis B. *Hepatol Int.* 2007; 1:415-30.
- 28 Lau JY, Wright TL. Molecular virology and pathogenesis of hepatitis B. *Lancet.* 1993; 342(8883):1335-40.

- 29 Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A "New" Antigen in Leukemia Sera. *Jama*. 1965; 191:541-6.
- 30 Ou JH. Molecular biology of hepatitis B virus e antigen. *J Gastroenterol Hepatol*. 1997; 12(9-10):S178-87.
- 31 Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus. *Nature*. 1985; 317(6037):489-95.
- 32 Okamoto H, Imai M, Kametani M, Nakamura T, Mayumi M. Genomic heterogeneity of hepatitis B virus in a 54-year-old woman who contracted the infection through materno-fetal transmission. *Jpn J Exp Med*. 1987; 57(4):231-6.
- 33 Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnius LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol*. 2002; 83(Pt 8):2059-73.
- 34 Norder H, Hammas B, Lofdahl S, Courouce AM, Magnius LO. Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strains. *J Gen Virol*. 1992; 73 ( Pt 5):1201-8.
- 35 Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Clinical and virological aspects of blood donors infected with hepatitis B virus genotypes B and C. *Journal of clinical microbiology*. 2002; 40(1):22-5.
- 36 Utsumi T, Yano Y, Truong BX, *et al*. Molecular epidemiological study of hepatitis B virus infection in two different ethnic populations from the Solomon Islands. *J Med Virol*. 2007; 79(3):229-35.
- 37 Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, *et al*. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J Virol*. 2009; 83(20):10538-47.
- 38 Kao JH. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Intervirology*. 2003; 46(6):400-7.
- 39 Stevens CE, Beasley RP, Tsui J, Lee WC. Vertical transmission of hepatitis B antigen in Taiwan. *N Engl J Med*. 1975; 292(15):771-4.
- 40 Hsu HY, Chang MH, Chen DS, Lee CY, Sung JL. Baseline seroepidemiology of hepatitis B virus infection in children in Taipei, 1984: a study just before mass hepatitis B vaccination program in Taiwan. *J Med Virol*. 1986; 18(4):301-7.
- 41 Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B virus genotypes and spontaneous hepatitis B e antigen seroconversion in Taiwanese hepatitis B carriers. *Journal of medical virology*. 2004; 72(3):363-9.
- 42 Liu CJ, Kao JH, Chen DS. Therapeutic implications of hepatitis B virus genotypes.

*Liver Int.* 2005; 25(6):1097-107.

43 Ni YH, Chang MH, Wang KJ, *et al.* Clinical relevance of hepatitis B virus genotype in children with chronic infection and hepatocellular carcinoma.

*Gastroenterology.* 2004; 127(6):1733-8.

44 徐富珍、陳信木. 蕃薯+芋頭=臺灣土豆?——臺灣當前族群認同狀況比較分析. 臺灣人口學會年會「人口、家庭與國民健康政策回顧與展望」研討會, 2004.

45 Department of Statistics of Ministry of the Interior Taiwan. Report on the Survey of Citizens' Life Status in Taiwan Area. Available at: <http://www.moi.gov.tw/> 2002.

46 王明珂. 過去、集體記憶與族群認同: 台灣的族群經驗, 見中央研究院近代史研究所編, 認同與國家: 近代中西歷史的比較: 台北: 中央研究院近代史研究所。1994.

47 Council for Hakka Affairs Taiwan. General Investigation of Hakka Population in 2008. Available at <http://www.hakka.gov.tw/>. 2008.

48 王甫昌. 由「中國省籍」到「台灣族群」: 戶口普查籍別類屬轉變之分析. 台灣社會學. 2005年6月; 第九期:59-117.

49 李壬癸. 台灣南島民族的族群與遷徙: 台北: 常民文化 1997.

50 王嵩山. 臺灣原住民社會與文化概論: 台北: 聯經 2001.

51 Council of Indigenous Peoples Taiwan. Statistic Report in Taiwan Aborigines in 2002. Available at <http://www.wapcgo.tw/>. 2002.

52 黃宣範. 臺灣: 南島民族最可能的原鄉. 臺大校友雙月刊. 2009; 64:6-14.

53 林媽利. 從 DNA 的研究看台灣原住民的來源. *LANGUAGE AND LINGUISTICS.* 2001; 2(1):241-6.

54 Sakugawa H, Nakasone H, Nakayoshi T, *et al.* Preponderance of hepatitis B virus genotype B contributes to a better prognosis of chronic HBV infection in Okinawa, Japan. *J Med Virol.* 2002; 67(4):484-9.

55 Liu Y, Hussain M, Wong S, Fung SK, Yim HJ, Lok AS. A genotype-independent real-time PCR assay for quantification of hepatitis B virus DNA. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(2):553-8.

56 Chen J, Yin J, Tan X, *et al.* Improved multiplex-PCR to identify hepatitis B virus genotypes A-F and subgenotypes B1, B2, C1 and C2. *J Clin Virol.* 2007; 38(3):238-43.

57 Kirschberg O, Schuttler C, Repp R, Schaefer S. A multiplex-PCR to identify hepatitis B virus--enotypes A-F. *J Clin Virol.* 2004; 29(1):39-43.

58 Naito H, Hayashi S, Abe K. Rapid and specific genotyping system for hepatitis B virus corresponding to six major genotypes by PCR using type-specific primers. *J Clin Microbiol.* 2001; 39(1):362-4.

59 Gunther S, Li BC, Miska S, Kruger DH, Meisel H, Will H. A novel method for

efficient amplification of whole hepatitis B virus genomes permits rapid functional analysis and reveals deletion mutants in immunosuppressed patients. *J Virol.* 1995; 69(9):5437-44.

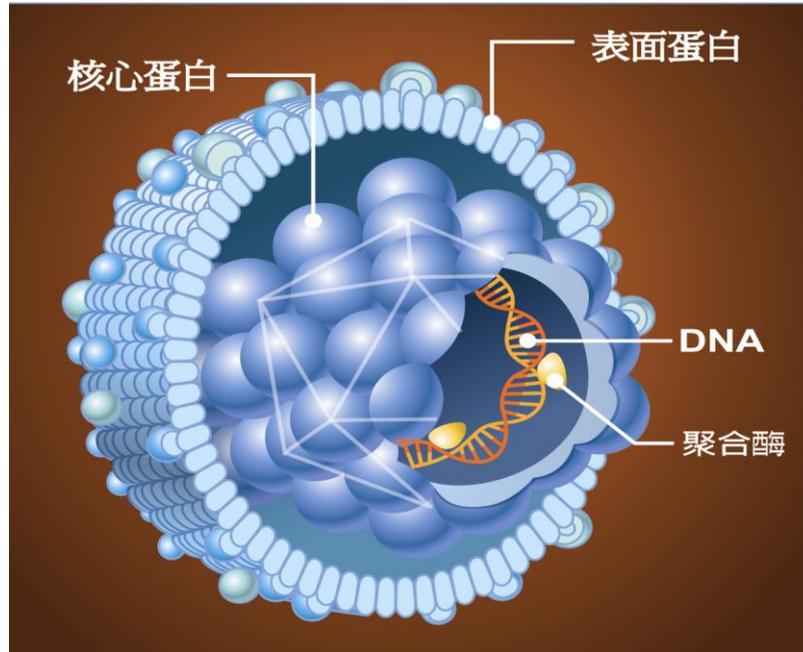
60 Tai DI, Changchien CS, Hung CS, Chen CJ. Replication of hepatitis B virus in first-degree relatives of patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 61(5):716-9.

61 Liaw YF, Leung N, Kao JH, *et al.* Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int.* 2008; 2(3):263-83.



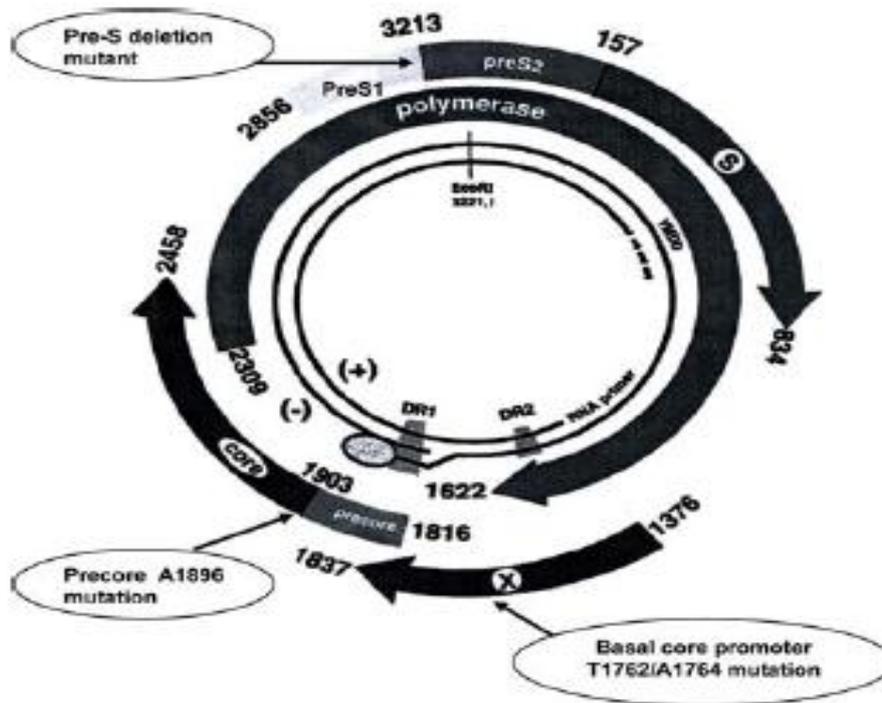
## 附錄

圖 1. B 型肝炎病毒結構



資料參考來源：2002 James A. Perkins之原著

圖 2. B 型肝炎病毒之 DNA 結構



資料來源：Kao J-H. Role of viral factors in the natural course and therapy of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007;1:415-430.

圖 3. B 型肝炎病毒之主要基因型世界分佈圖



資料參考來源：Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. Mar 2000;118(3):554-559.



圖4. 南島語族之世界分佈



資料參考來源：黃宣範. 臺灣：南島民族最可能的原鄉. 臺大校友雙月刊.  
2009;64:6-14.



圖 5. 問卷內容

**肝病防治問卷**

編號：\_\_\_\_\_

感謝您參與我們的問卷調查，本問卷僅供本會學術研究之用，您的個人資料保證不會外流，以下問題您可依據實際情況放心回答：

1. 您的出生地：①台灣地區：\_\_\_\_\_縣市 ②其他地區：\_\_\_\_\_
2. 您目前居住地：①台灣地區：\_\_\_\_\_縣市 ②其他地區：\_\_\_\_\_
3. 您是否具有原住民身份：  
 (1)沒有  (2)阿美族  (3)泰雅族  (4)布農族  (5)雅美族  
 (6)賽夏族  (7)鄒族  (8)魯凱族  (9)排灣族  (10)卑南族  
 (11)邵族  (12)噶瑪蘭族  (13)太魯閣族  (14)撒奇萊雅族  (15)賽德克族
4. 您是否具有客家人身份：①沒有 ②有
5. 您父親的出生地：①台灣地區：\_\_\_\_\_縣市 ②其他地區：\_\_\_\_\_
6. 您父親是否具有原住民身份：  
 (1)沒有  (2)阿美族  (3)泰雅族  (4)布農族  (5)雅美族  
 (6)賽夏族  (7)鄒族  (8)魯凱族  (9)排灣族  (10)卑南族  
 (11)邵族  (12)噶瑪蘭族  (13)太魯閣族  (14)撒奇萊雅族  (15)賽德克族
7. 您父親是否具有客家人身份：①沒有 ②有
8. 您母親的出生地：①台灣地區：\_\_\_\_\_縣市 ②其他地區：\_\_\_\_\_
9. 您母親是否具有原住民身份：  
 (1)沒有  (2)阿美族  (3)泰雅族  (4)布農族  (5)雅美族  
 (6)賽夏族  (7)鄒族  (8)魯凱族  (9)排灣族  (10)卑南族  
 (11)邵族  (12)噶瑪蘭族  (13)太魯閣族  (14)撒奇萊雅族  (15)賽德克族
10. 您母親是否具有客家人身份：①沒有 ②有
11. 您是否曾經接受輸血（接受別人的血液）：①沒有 ②有
12. 您是否曾接受開刀手術：①沒有 ②有
13. 您是否曾經接受刺青或穿體洞（如耳洞，舌環等）：①沒有 ②有
14. 您是否曾經與他人共用針頭：①沒有 ②有
15. 您是否經常飲酒（每天或2-3天喝一次）：①是 ②否

圖 6. 研究活動流程

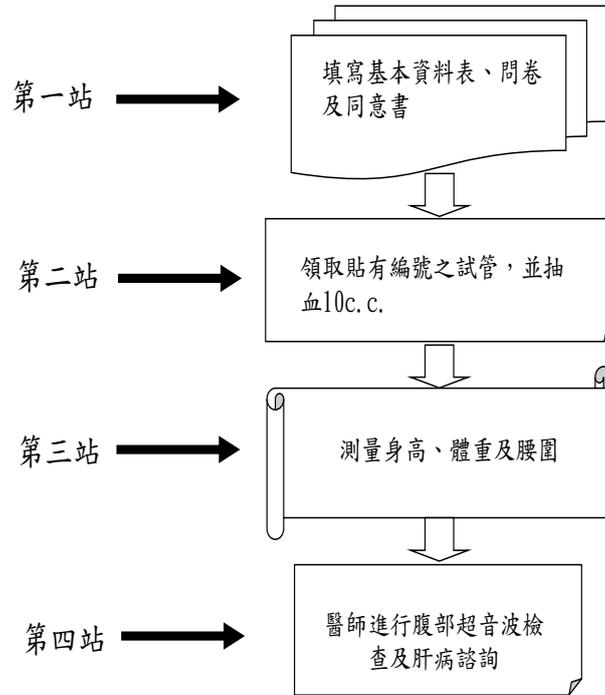


圖 7. B 型肝炎病毒六種基因型之電泳圖

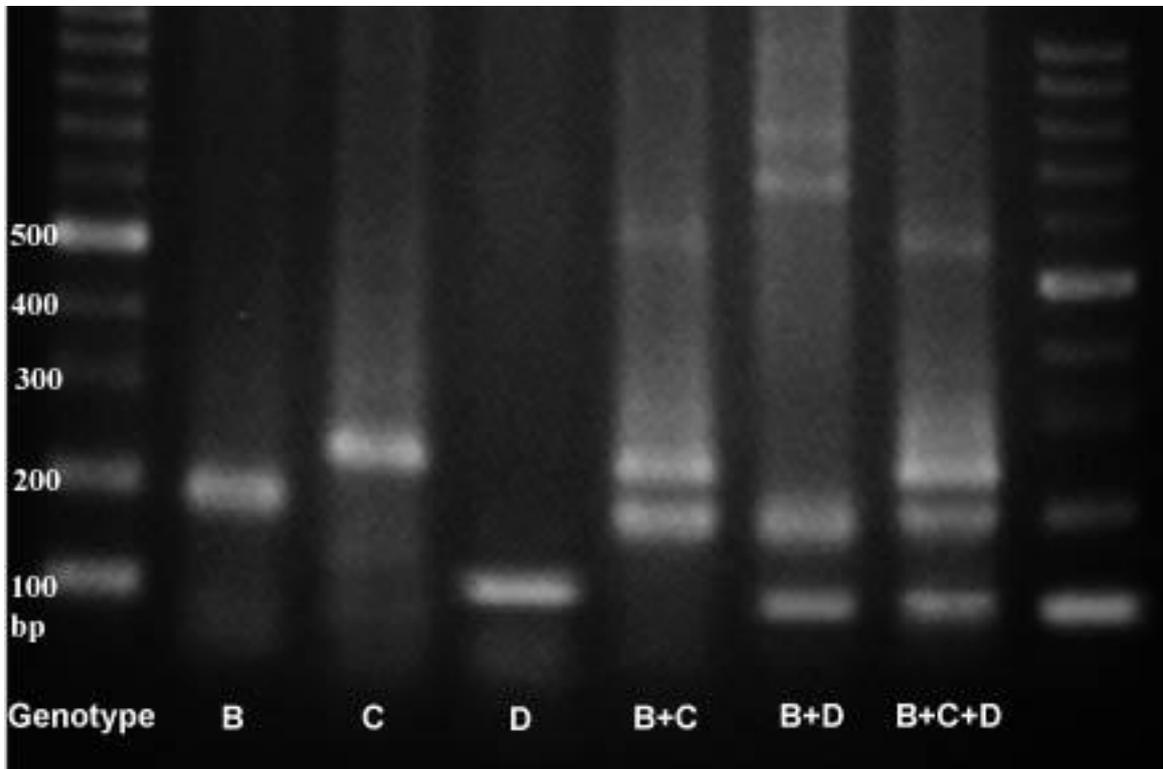
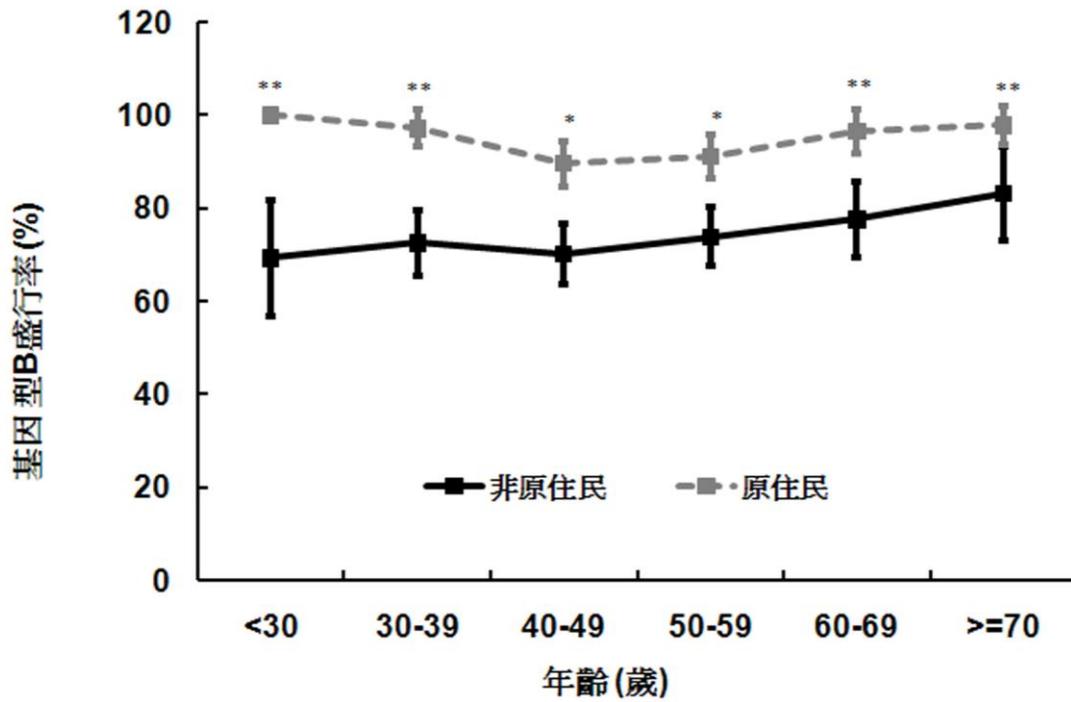


圖 8. 不同年齡層非原住民與原住民之基因型 B 盛行率



註：\*表示經過  $\chi^2$  test 檢定，P-value<0.0001

註：\*\*表示經過 Fisher's exact test 檢定，P-value<0.05

表 1. 判定 B 型肝炎病毒基因型所用之 Nested PCR 及 multiplex-PCR 之引子

引子名稱	序列	大小
HBV-2821F	5'-GGTCACCATATTCTTGGGAACAA-3'	2832bp
HBV-2437R	5'-CCGAGATTGAGATCTTCTGCGAC-3'	
HBV-B1470F	5'-CCGCTTGGGGCTCTACCGCCCG-3'	190bp
HBV-B1660R	5'-CTCTTATGCAAGACCTTGGGCAGGTTCC-3'	
HBV-C3164F	5'-CTCCCATCTCTCCACCTCTAAGAGACAGT-3'	242bp
HBV-C190R	5'-CAGGGGTCCTAGGAATCCTGATGTKG-3'	
HBV-D2843F	5'-ACAGCAGGGGCAGAATCTTTCCACCAG-3'	116bp
HBV-D2958R	5'-GTTGGGATTGAAGTCCCAATCTGGA-3'	

註：S: sense, AS: anti-sense, R: G or A, K: T or G, M: A or C, W: A or T, Y: C or T.

註：F: forward ; R: reverse

資料來源：

1. Chen J, Yin J, Tan X, et al. Improved multiplex-PCR to identify hepatitis B virus genotypes A-F and subgenotypes B1, B2, C1 and C2. J Clin Virol. Mar 2007;38(3):238-243.
2. Kirschberg O, Schuttler C, Repp R, Schaefer S. A multiplex-PCR to identify hepatitis B virus--genotypes A-F. J Clin Virol. Jan 2004;29(1):39-43.
3. Naito H, Hayashi S, Abe K. Rapid and specific genotyping system for hepatitis B virus corresponding to six major genotypes by PCR using type-specific primers. J Clin Microbiol. Jan 2001;39(1):362-364.

表 2. B 型肝炎病毒全長基因體定序之引子

引子名稱	序列
P1(X+S)F	5'-CCGGACCCGGGAGCTCTTCTTTTTTCACCTCTGCCTAATCA-3'
P2(X+S)R	5'-CCGGACCCGGGAGCTCTTCAAAAAGTTGCATGGTGCTGG-3'
-2043	5'-CAATGTTCCGGAGACTCTAAGGC-3'
+1861	5'-TGTTCAAGCCTCCAAGCTGT-3'
+2516	5'-TCTTTAATCCTGAATGGCAA-3'
+3193	5'-CATCCTCAGGCCATGCAGTGGAA -3'
+599	5'-TGTATTCCCATCCCATCATC-3'
+1282	5'-CTAGCCGCTTGTTTTGCTCG-3'

註：F: forward ; R: reverse

資料來源：Gunther S, Li BC, Miska S, Kruger DH, Meisel H, Will H. A novel method for efficient amplification of whole hepatitis B virus genomes permits rapid functional analysis and reveals deletion mutants in immunosuppressed patients. *J Virol.* Sep 1995;69(9):5437-5444.

表 3. B 型肝炎受試者之基本資料及抽血資料

	非原住民 (N=1961 人)	原住民 (N=1527 人)	p- value
性別 (男性/女性)	1056/905	664/863	<0.0001*
平均年齡 ± SD (歲)	50.0 ± 13.6	51.6 ± 13.3	0.0006**
e 抗原陽性	199 (10.2)	81 (5.3)	<0.0001*
平均 AST (U/L)	31.6 ± 27.1	37.6 ± 30.6	<0.0001**
平均 ALT (U/L)	39.4 ± 45.9	39.3 ± 32.6	0.9034**
ALT 異常 (>40 U/L)	554 (28.3)	477 (31.2)	0.0551*
平均 HBV DNA ± SD (IU/mL)	43,024,742 ±309,684,061	2,631,189 ±24,870,996	<0.0001**
HBV DNA >2,000 IU/mL	720 (36.7)	419 (27.4)	<0.0001*
有經常飲酒習慣†	352 (19.3)	517 (40.0)	<0.0001*

註：欄位中數字代表人數，( ) 內數字代表百分比(%)。

\*以  $\chi^2$  test 檢定 p-value

\*\*以 t-test 檢定 p-value

† 374 人無飲酒資料

表 4. 基因型 B 或 C 之 B 型肝炎受試者基本資料及抽血資料

	基因型 B (N=955 人)	基因型 C (N=230 人)	<i>p</i> -value
性別 (男性/女性)	483/472	129/101	0.1332*
平均年齡 ± SD (歲)	50.3 ± 13.3	48.1 ± 12.6	0.0202**
e 抗原陽性	98 (10.3)	86 (37.4)	<0.0001*
平均 AST (U/L)	37.5 ± 32.5	41.7 ± 38.1	0.0880**
平均 ALT (U/L)	44.2 ± 49.0	53.6 ± 57.2	0.0121**
ALT 異常 (>40 U/L)	341 (35.7)	99 (43.0)	0.0387*
平均 HBV DNA ± SD (IU/mL)	7,329,002 ±71,527,426	254,745,328 ±808,850,133	<0.0001**
HBV DNA >2,000 IU/mL	516 (54.0)	200 (87.0)	<0.0001*
有經常飲酒習慣†	217 (25.4)	61 (28.1)	0.4231*

註：欄位中數字代表人數，( ) 內數字代表百分比(%)。

\*以  $\chi^2$  test 檢定 *p*-value

\*\*以 t-test 檢定 *p*-value

† 115 人無飲酒資料

表 5. 非原住民與原住民不同基因型與 e 抗原狀態之比較

	非原住民	原住民	<i>p</i> -value*
HBeAg 陽性	N=146	N=42	
基因型 B	65 (44.5)	35 (83.3)	<0.0001
基因型 C	81 (55.5)	7 (16.7)	
HBeAg 陰性	N=565	N=425	
基因型 B	452 (80.0)	398 (93.7)	<0.0001
基因型 C	113 (20.0)	27 (6.4)	

註：欄位中數字代表人數，( ) 內數字代表百分比(%)。

\*以  $\chi^2$  test 檢定 *p*-value

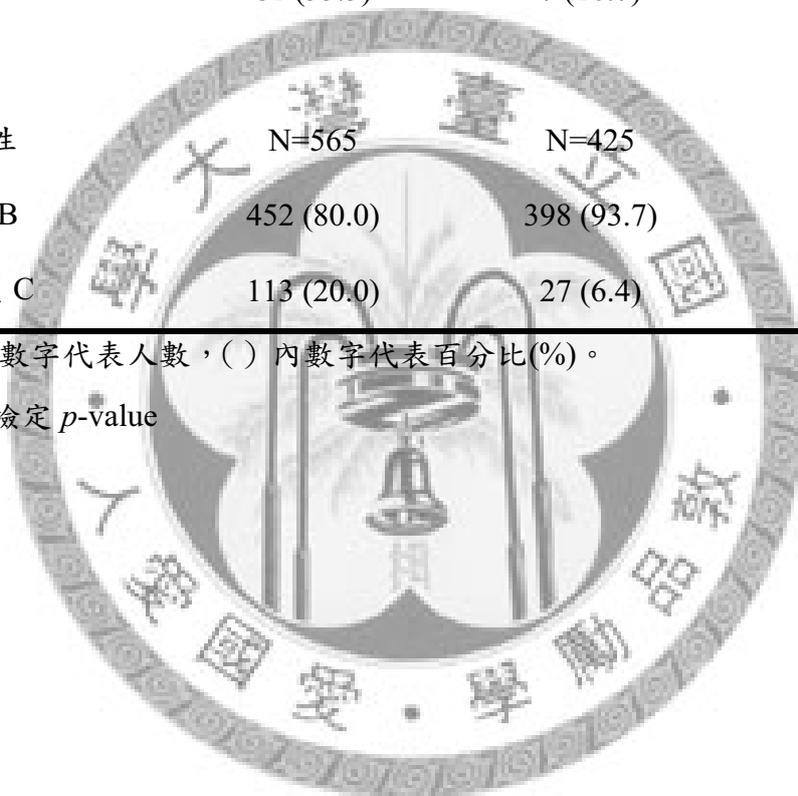


表 6. 四大原住民語系不同基因型與 e 抗原狀態之比較

	四大原住民語系				<i>p</i> -value
	泰雅	排灣	鄒族	巴丹	
HBeAg 陽性	N=15	N=19	N=8	N=0	
基因型 B	10 (66.7)	17 (89.5)	8 (100)	--	0.1269*
基因型 C	5 (33.3)	2 (10.5)	0 (0)	--	
HBeAg 陰性	N=203	N=175	N=47	N=0	
基因型 B	182 (89.7)	170 (97.1)	46 (97.9)	--	0.0054**
基因型 C	21 (10.3)	5 (2.9)	1 (2.1)	--	

註：欄位中數字代表人數，( ) 內數字代表百分比(%)。

\*以 Fisher's exact test 檢定 *p*-value

\*\*以  $\chi^2$  test 檢定 *p*-value

表 7. 基因型 D 者之基本資料及抽血資料

編號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
性別	女	男	男	女	女	男	女	男	女	女	男	女	男
平均年齡	36	53	65	39	37	76	72	51	49	36	33	45	49
e 抗原狀態	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
AST (U/L)	17	40	370	27	15	115	54	20	34	20	30	110	21
ALT (U/L)	11	49	104	29	15	37	28	30	40	19	57	110	32
HBV DNA (IU/mL)	108,24	34,597	3,314,633	115,677	115,191	13,187,781	1,453,239	15,062	7,218	47,208	384,705	115,237,040	964,71
甲種胎兒蛋白 (ng/ml)	2.6	3.3	20.6	2.3	2.0	1.8	89.5	2.1	1.9	2.7	1.8	2.4	NA
出生地	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東	屏東	嘉義縣
居住地	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東縣	屏東	屏東	嘉義縣
族群	排灣族	魯凱族	排灣族	排灣族	排灣族	排灣族	排灣族	排灣族	排灣族	排灣族	非原住民	排灣族	鄒族
曾經輸血	N	NA	Y	N	Y	N	N	N	N	N	N	N	N
曾經開刀手術	N	Y	N	Y	N	N	Y	N	N	Y	Y	Y	N
曾經刺青或穿 體洞	Y	N	N	Y	N	N	N	N	Y	Y	N	Y	N
曾經共用針頭	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

註：+代表陽性、-代表陰性；NA 代表未受檢；Y 代表有、N 代表無

## 附件 1. 受試者同意書

### 國立台灣大學醫學院附設醫院 臨床試驗受試者說明及同意書

您被邀請參與此研究。本表格提供您有關本研究之相關資訊，研究主持人或其他協同主持醫師將會為您說明研究內容並回答您的任何疑問。

<b>研究計畫名稱：</b> 中文：台灣 B 型肝炎與 C 型肝炎之研究 英文：Investigation of hepatitis B and hepatitis C in Taiwan
<b>執行單位：</b> 財團法人肝病防治學術基金會 電話：02-23811896 <b>主要主持人：</b> 許金川 職稱：台大醫院內科部主治醫師 <b>協同主持人：</b> 粘曉菁 職稱：台大醫院家庭醫學部兼任主治醫師 陳健弘 職稱：台大醫院內科部主治醫師 ※二十四小時緊急聯絡人：魯惠雲 電話：0931033988
<b>受試者姓名：</b> <b>性別：</b> <input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女 <b>出生日期：</b> 民國_____年_____月_____日 <b>通訊地址：</b> _____ 縣(市) _____ 鄉(鎮區) _____ 村(里) _____ 鄰 _____ 路(街) _____ 段 _____ 巷 _____ 弄 _____ 號 _____ 樓之 <b>聯絡電話：</b> (日) _____ (夜) _____ (手機) _____
<b>一、藥品(新醫療技術、新醫療器材或其他)全球上市現況簡介：</b> 本研究不涉及。
<b>二、試驗目的：</b> 最近的研究顯示，B 型肝炎帶原者的病毒量以及病毒基因型可能與日後發生肝癌的比率有關。C 型肝炎的病毒基因型也可能與肝癌的發生有關。B、C 肝炎的盛行率有區域性的差異，肝癌病人的存活也有南北及城鄉的差異。不過 B、C 肝炎的病毒基因型是否有區域性或族群性之差異，目前仍然不清楚。因此本研究的目的就是要釐清在台灣地區，B、C 型肝炎的病毒基因型是否存在地域性或族群性之差異。

**三、試驗之主要納入與排除條件：**符合下列條件者，適合參加本試驗：台灣地區民國 74 年 1 月 1 日前出生，B 或 C 型肝炎患者。

**四、試驗方法、程序及相關檢驗：**

這是台大醫院與財團法人肝病防治學術基金會的合作研究計畫。在第一階段的篩檢中，你已經被檢驗出罹患 B 或 C 型肝炎，因此被納入本研究。

在您決定加入我們的研究後，我們將進行問卷資料收集、腹部超音波檢查並替您抽 10c.c. 的血液。如果您是 B 型肝炎帶原者，我們將會進行 B 型肝炎病毒 DNA 定量，以及 B 型肝炎病毒基因型分析。如果您是 C 型肝炎感染者，我們將會進行 C 型肝炎病毒 RNA 定量，以及 C 型肝炎病毒基因型分析。這些檢查將在財團法人肝病防治學術基金會合作之血清生化分析公司普生公司以及台大醫院實驗室進行。檢體只會標示受試者代碼，不含您的基本資料，基於對您的隱私權保密原則，您的任何資料均不會做任何具名發表，您可隨時要求銷毀檢體。台大醫院將保存此次研究後剩餘的檢體於檢驗大樓冷凍庫中五年，作為日後與肝病相關的研究用途。剩餘檢體日後若有其他檢測項目，會再經本院研究倫理委員會同意後使用。

**五、可能產生之副作用、危險、不適、發生率及處理方法：**可以說沒有任何副作用，只有抽血時可能會有些微的疼痛，抽血時有專業醫護人員在場協助與處理。

**六、本疾病相關之其他可能替代療法及療程說明：**本研究不涉及。

**七、試驗預期效益：**此研究可以幫助我們了解台灣地區 B 型及 C 型肝炎之分子流行病學研究，並提供民眾更好的健康管理及肝臟疾病照顧。

**八、試驗進行中受試者之禁忌、限制與應配合之事項：**自願配合問卷填寫、抽血與腹部超音波檢查。

**九、機密性：**臺大醫院將依法將您的資料作為機密處理，您亦瞭解臨床試驗監測者、稽核者、衛生署主管機關與本院研究倫理委員會皆有權檢視您的研究資料，以確保臨床試驗過程和數據符合相關法律及法規要求，並會遵守保密之倫理。

**十、相關損害發生時的賠償、治療與保險：**若依臨床試驗計畫執行引起試驗相關損害時，由該臨床試驗委託者(財團法人肝病防治學術基金會)依法負全部賠償責任。本院提供醫療照護。

**十一、受試者權利：**

(一) 您參加本試驗皆不須繳交額外費用。

(二) 試驗過程中，與你(妳)的健康或是疾病有關資訊，可能影響你(妳)繼續接受臨床試驗意願的任何重大發現，都將即時提供給你(妳)。

- (三) 如對試驗相關資訊或對受試者權利有任何疑問，請電詢研究倫理委員會：林小姐(電話:02-23123456 轉 3155)。
- (四) 如對試驗有關之損害有任何疑問，可隨時聯絡研究主持人許金川(電話：0931033988)。
- (五) 醫師或研究護士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，且醫師已回答您有關藥品(新醫療技術、新醫療器材或其他)與研究的問題。

#### 十二、試驗之退出與中止：

您可自由決定是否參加本試驗，並於試驗過程中可隨時撤銷同意，退出試驗，不須任何理由，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。此外，您並已充份了解試驗主持人或臨床試驗委託者亦可能於必要時中止該試驗之進行。

#### 十三、利益衝突：無。

#### 十四、簽章：

- (一) 主要主持人、協同主持人、代理主持人或研究護士已詳細解釋並回答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/代理主持人/研究護士

簽章：\_\_\_\_\_

日期：\_\_\_\_\_

- (二) 受試者或法定代理人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

簽章：\_\_\_\_\_

日期：\_\_\_\_\_

#### 法定代理人

簽章：\_\_\_\_\_

日期：\_\_\_\_\_

\* 受試者為無行為能力(未滿七歲之未成年人者或禁治產人)，由法定代理人為之；禁治產人，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)，應得法定代理人之同意。

(三) 有同意權人

姓名：\_\_\_\_\_

關係：\_\_\_\_\_

身份證字號：\_\_\_\_\_ 聯絡電話：\_\_\_\_\_

通訊地址：\_\_\_\_\_

生日：\_\_\_\_\_

簽章：\_\_\_\_\_

日期：\_\_\_\_\_

**\*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障礙或精神錯亂無法自行為之時，由有同意權之人為之。前項有同意權人為配偶及同居之直系親屬。**

(四) 見證人

姓名：\_\_\_\_\_

身份證字號：\_\_\_\_\_ 聯絡電話：\_\_\_\_\_

通訊地址：\_\_\_\_\_

簽章：\_\_\_\_\_

日期：\_\_\_\_\_

\*非受試者本人或法定代理人簽章，則須另具見證人一名。