

肆、討論

一、IL-1 β 啟動子多型性分析

臨床上的研究指出在一些具有神經退化性狀況的病患(如中風、腦部損傷、帕金森氏症、阿茲海默症、癲癇、多發性硬化症和中樞神經系統的感染或發炎等)，其腦部或腦脊髓液中有大量的 IL-1 表現。在 1995 年 Degen-Blum 等人發現 PD 患者的腦部及腦脊髓液大量表現促發炎細胞激素(inflammatory cytokines)後，如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-2 和 IL-6 等，陸續有許多 IL-1 啟動子上基因多型性與 PD 關連的研究被報導出來，在 2000 年 Nishimura 等人對於日本族群研究中，顯示帶有 IL-1 β -511 TT 基因型 PD 患者會較 CC 基因型延遲發病的現象，同樣地，在芬蘭族群的研究中，IL-1 β -511 TT 基因型也被報導在 PD 患者中出現頻率顯著低於正常族群(Mattila et al., 2002)。但在德國與英國的族群中，卻有相反的研究結果顯示 PD 病患帶有-511T 基因型的頻率顯著高於正常族群(McGeer et al., 2002; Schulte et al., 2002)。

然而在本實驗中分析台灣 PD 族群與正常族群 IL-1 β C-511T 基因多型性分佈的結果(表四)，並未發現 CC 或 TT 基因型在兩族群間具有差異性，因此推論 IL-1 β C-511T 基因多型性的變異受到不同族群影響，可能對於 PD 與正常人的族群也具有不同的意義。

二、IL-6 和 IL-8 啟動子多型性分析

在有關 IL-6 啟動子上游的基因多型性的研究中，多半與阿茲海默症罹患風險有較多相關證據。在諸如 Bagli 等人報導 IL-6 -147C 的基因多型性對於阿茲海默症為具有高風險的基因型，也有研究指出 IL-6 啟動子區域上的基因多型性與延遲 AD 發病及降低 AD 患病的風險具有相關性(Papassotiropoulos et al., 1999)。但在 IL-6 多型性與 PD 的關係相關研究中，都沒有發現其與 PD 有顯著相關性(Kruger et al., 2000; Owen, 2004)。而在本研究結果中，檢視 365 位 PD 患者與 215 位控制組，發現僅有一位 PD 患者為 GC 基因型，顯示台灣族群的 IL-6 174GC 和 CC 多型性出現頻率極低為罕見基因型。

而在 IL-8 T-251A 基因多型性的研究中，Owen 等人已被報導 PD 病患屬於-251TT 基因型的比例顯著高於正常族群，但對於其他 IL-8 啟動子上游基因多型性的相關文獻的搜尋，並無相同的研究結果可以佐證。在本研究中對於台灣 PD 族群與 IL-8 T-251A 的相關性，也並未找出 PD 族群與控制組相關性。

三、刺激物誘導 TNF- α 的表現會因細胞株、劑量及處理時間而有所差異

因此本實驗選用 LPS 處理 PD 患者及控制組的淋巴細胞株，篩選出帶有 TNF- α -1031CC/-863AA 和-1031CC/-863AA 細胞株，以低濃度的 LPS (0.1~1000 ng/ml)處理，此兩株淋巴細胞的表現不甚一致，ND0519 不論以何種濃度處理在 2 小時這組發現有偏高 TNF- α 表現，但在 ND1830 此狀況並不明顯。然而在 ND0519 和 ND1830 細胞株在 6 小時的處理中發現有相近的趨勢，在達較高濃度(10 和 100 ng/ml)的 LPS 處理時，其表現量也提高，但 1000 ng/ml 表現量卻又下降。根據 2001 年 Liu 等人所發表的文獻中，以 Microglia 做為材料，以低到高濃度與不同時間的 LPS 處理，顯示在 6 小時的 1 ng/ml 的 TNF- α 表現量達到高峰，之後隨濃度上升表現量逐漸下降，指出因受到過高的 LPS 導致的細胞死亡(Liu et al., 2001)。與本研究在 6 小時的結果具有一致性，但因為使用細胞不同可能導致使 TNF- α 下降的 LPS 濃度並不一樣，不過在淋巴細胞株被報導會因受到 LPS 在與 IL-21 的單獨或共同誘導下，引發細胞凋亡(Mehta et al., 2003)。但在 LPS 藥物處理相關的研究發現，在不同細胞中使用的 LPS 濃度範圍及處理時間變化極大，因此 Gayle 等人認為可能是因為 LPS 的來源及純化方式不同而有所差異(Gayle et al., 2002)。

四、Cytokine antibody array 篩檢其他可能影響 PD 致病的 cytokine 標的

LPS 是在革蘭氏陰性菌細胞壁上的脂多醣成分，為一種刺激發炎反應及抗發炎反應的物質。早期文獻證實在黑質中直接注射 LPS 會造成黑質和紋狀體多巴胺神經細胞及 tyrosine hydroxylase 產量的減少 (Castano et al., 1998)，且相對於其他腦部區域，SNpc 對 LPS 所造成的神經毒性特別敏感 (Kim et al., 2000)，所以革蘭氏陰性菌感染後 LPS 的釋放被認為可能會造成細胞激素產量的改變及增加氧化壓力而造成 PD 的發病。

TNF- α 主要由巨噬細胞 (macrophage) 及單核球所分泌，TNF- β 則大多由淋巴球 (lymphoid cell) 所分泌 (Beutler and Cerami, 1989)。當 TNF- α 與受體結合後，會引發許多基因的調控 (Beutler and van Huffel, 1994)，包含：參與免疫反應的細胞激素 (如 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6)、轉錄因子 (如 NF- κ B)、生長因子 (如 PDGF) 或生長因子受體 (如 EGFR) 等基因的表現，故為一種多效性 (pleiotropic) 的細胞激素 (Vassalli, 1992)。根據實驗室先前對於 TNF- α 啟動子多型性的研究中，顯示 TNF- α 啟動子-1031C 的對偶基因可能造成個體對 PD 的易感受性，而由於聯鎖的關係，連帶地造成-1031C/-863A 單套型也與 PD 的易感受性有關 (馮，2006)。

因此在本研究中，選用 LPS 來處理帶有不同 TNF- α 啟動子-1031

多型性的 PD 患者淋巴細胞株，以篩檢出其他可能引發 PD 風險的細胞激素，所使用的 Cytokine Antibody array kit，可一次檢測多種細胞激素的蛋白質表現量，而在本實驗中發現，男性與女性 PD 患者相較於控制組來說，顯示 EGF (Epidermal growth factor)、TNF- β 均有明顯上升的情況。其中 EGF 是屬於與其結構相近的 heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF)及 transforming growth factor alpha (TGF- α)家族成員之一，屬於神經營養因子(neurontrophic factors)，能藉由監測 tyrosine hydroxylase 或多巴胺的回收，以增進神經中腦多巴胺神經存活。在離體實驗中，共同培養的多巴胺細胞與微小膠細胞，這些神經營養因子能刺激微小膠細胞產生其他因子，促進多巴胺神經的營養(Casper et al., 1994; Ho and Blumm 1997; Hanke et al., 2004)。