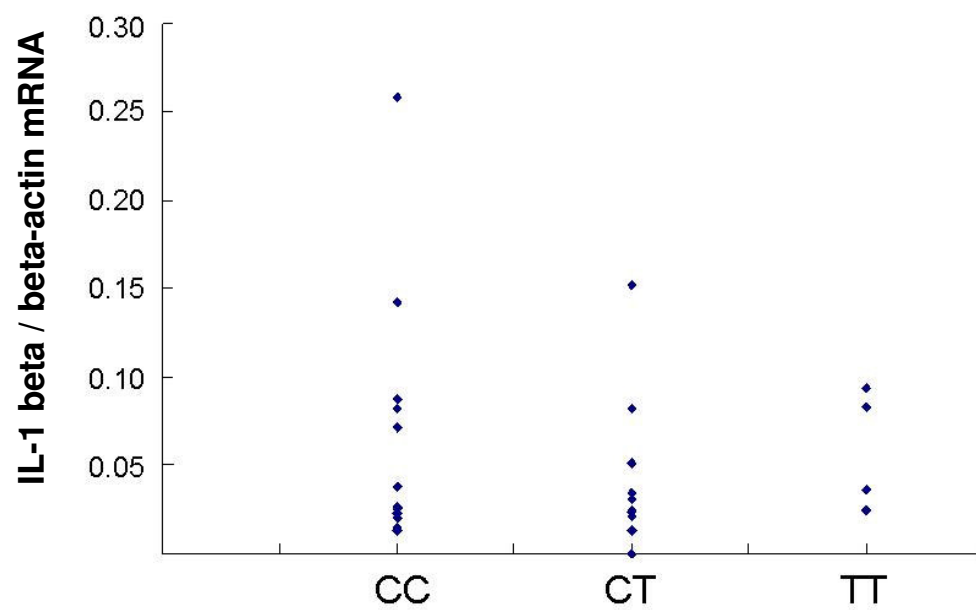
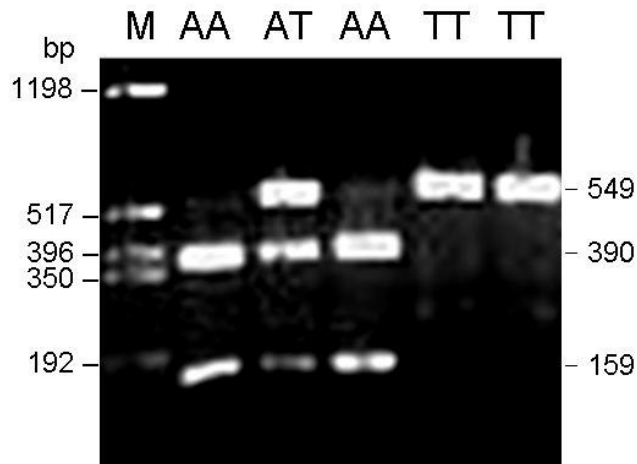


圖一、IL-1 β 啓動子基因多型性檢測洋菜膠體電泳照片。Lane M 爲 pGEM4 質體以限制酶 *Hinf*I 切割的結果，作爲片段大小標記。其餘 lane 爲包含該多型性之 PCR 放大片段，以 *Ava*I 限制酶切割的結果。含有此多型性之對偶基因會由 305 bp 的片段被切割成 190 bp 和 115 bp 兩片段，藉此判定其基因型。各樣品的多型性基因型標示於各 lane 的上方。

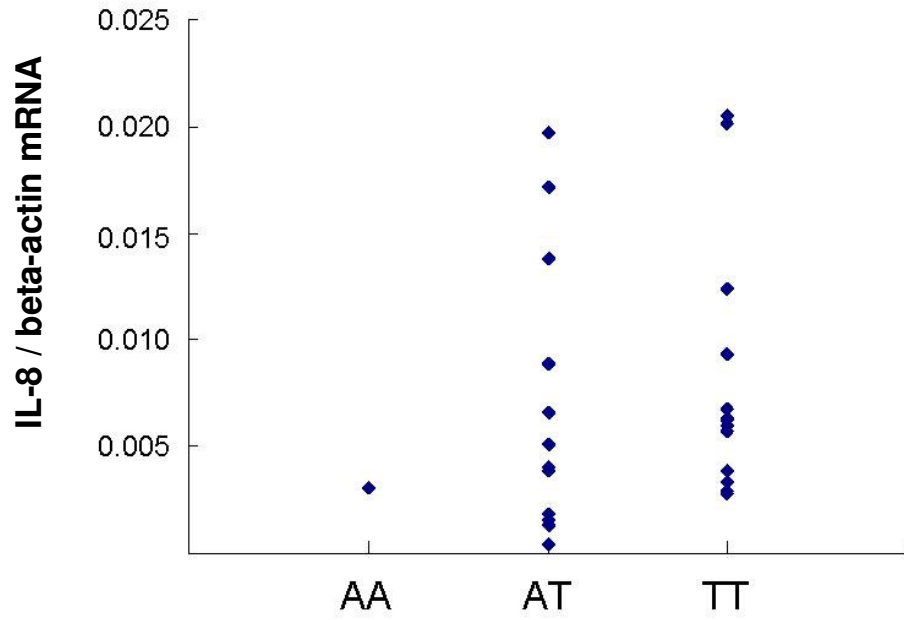


圖二、同步定量 PCR 分析白血球 IL-1 β / β -actin mRNA 的相對表現量。

橫軸為 IL-1 β 的基因上游的啓動子-511 位點多型性基因型。

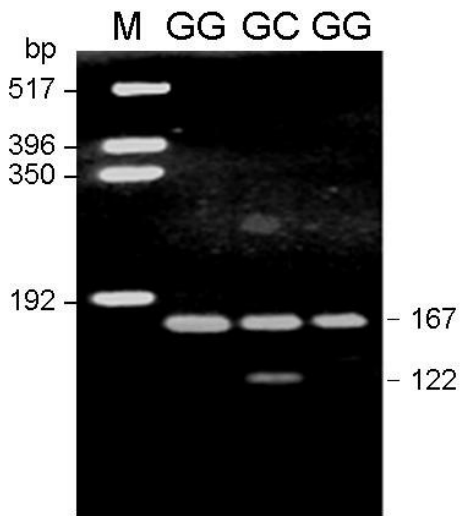


圖三、IL-8 啓動子基因多型性檢測洋菜膠體電泳照片。Lane M 爲 pGEM4 質體以限制酶 *HinfI* 切割的結果，作爲片段大小標記。其餘 lane 爲包含該多型性之 PCR 放大片段，以 *MfeI* 限制酶切割的結果。含有此多型性之對偶基因會由 549 bp 的片段被切割成 390 bp 和 159 bp 兩片段，藉此判定其基因型。各樣品的多型性基因型標示於各 lane 的上方。

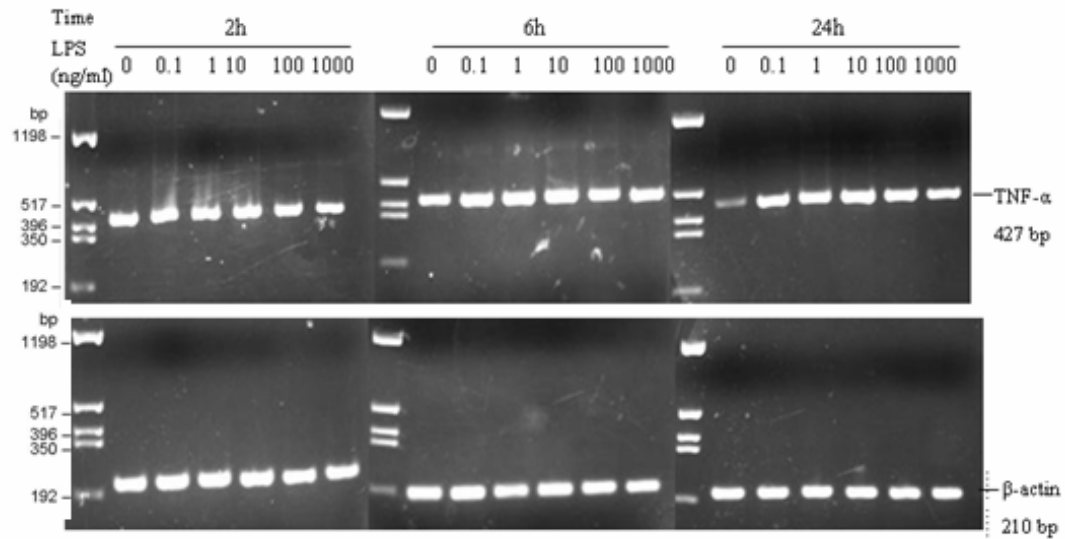


圖四、同步定量 PCR 分析白血球 IL-8/ β -actin mRNA 的相對表現量。

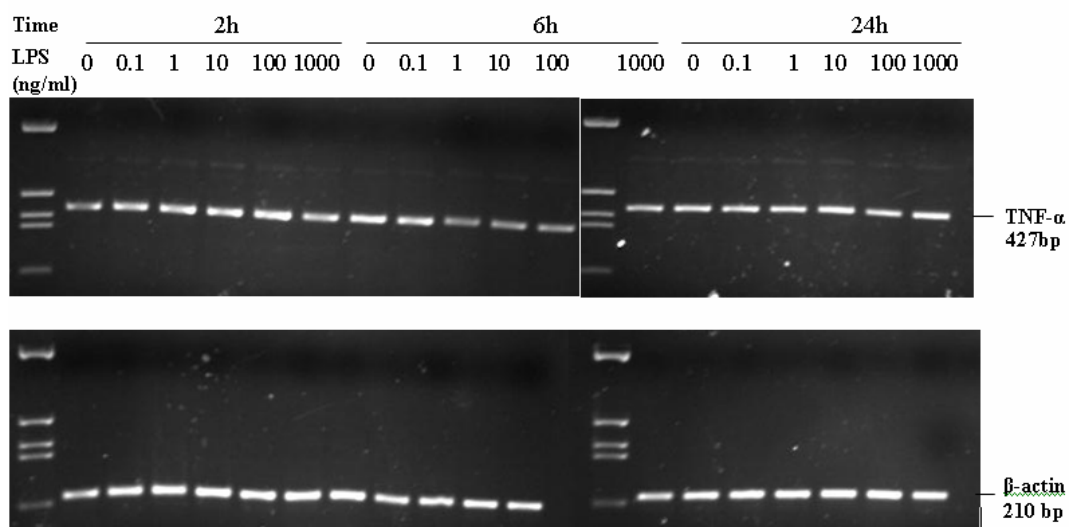
橫軸為不同的 IL-8 基因上游-251 的啓動子多型性基因型。



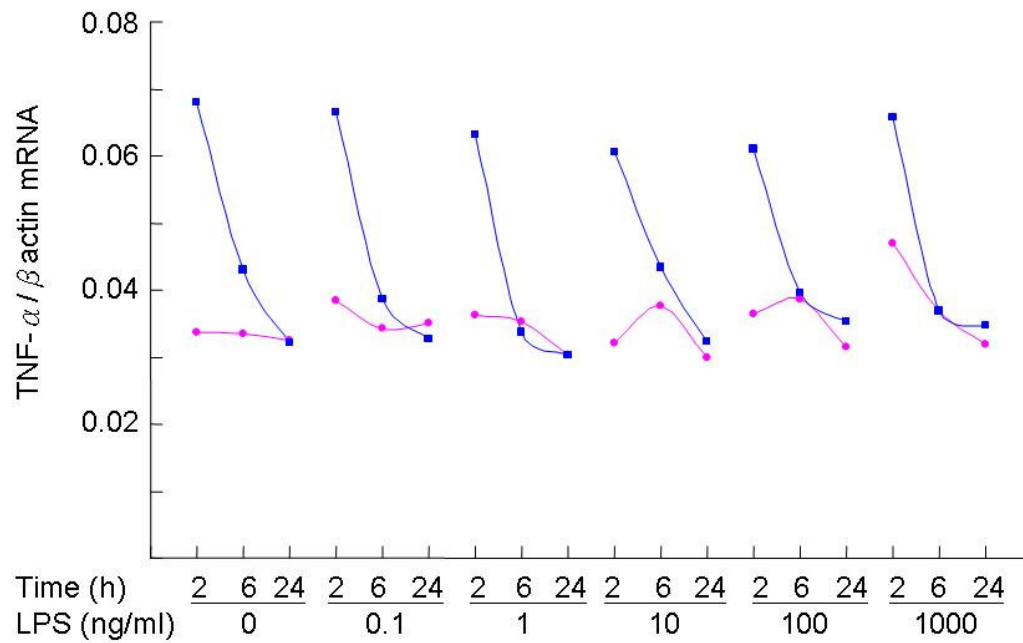
圖五、IL-6 啓動子基因多型性檢測洋菜膠體電泳照片。Lane 爲 pGEM4 質體以限制酶 *HinfI* 切割的結果，作爲片段大小標記。其餘 lane 爲包含該多型性之 PCR 放大片段，以 *NlaIII* 限制酶切割的結果。含有此多型性之對偶基因會由 167 bp 的片段被切割成 122 bp 和 45 bp 兩片段，藉此判定其基因型。各樣品的多型性基因型標示於各 lane 的上方。



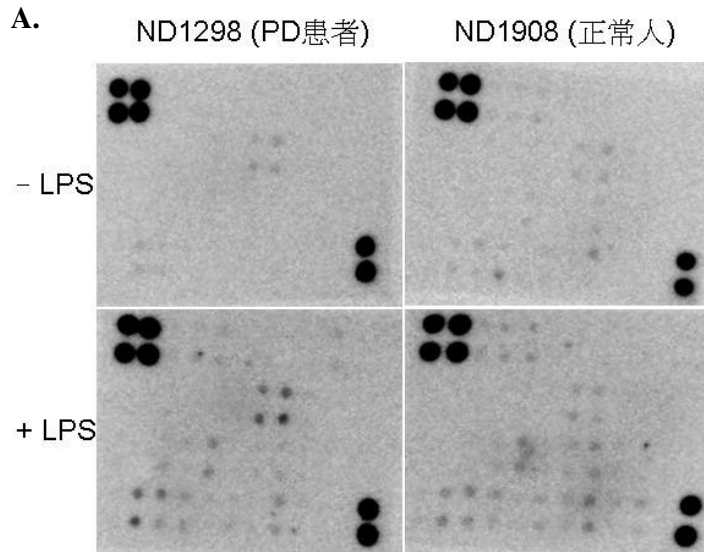
圖六、RT-PCR 分析 PD 患者淋巴細胞株 ND0519 經 LPS 誘導後 TNF- α mRNA 表現量。圖為三個時間(2 h、6 h 和 24 h)和六種不同濃度 LPS 處理(0、0.1、1、10、100 和 1000 ng/ml)的 RT-PCR 結果，下方的 β -actin 做為內生性控制組。



圖七、RT-PCR 分析 PD 患者淋巴細胞株 ND1830 經 LPS 誘導後 TNF- α mRNA 表現量。圖為三個時間(2 h、6 h 和 24 h)和六種不同濃度 LPS 處理(0、0.1、1、10、100 和 1000 ng/ml)的 RT-PCR 結果，下方的 β -actin 做為內生性控制組。



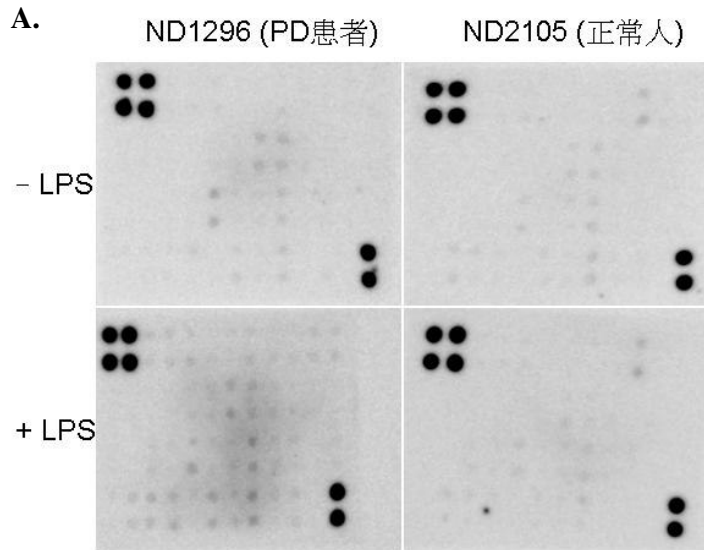
圖八、同步定量 PCR 分析 PD 患者淋巴細胞株經 LPS 誘導後其 TNF- α mRNA 的表現量。ND0519(■)和 ND1830(●)分別以三個時間(2 h、6 h 和 24 h)和六種不同濃度 LPS 處理(0、0.1、1、10、100 和 1000 ng/ml)，再進行同步定量 PCR 分析 TNF- α / β -actin mRNA 的相對表現量。



B.

	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
1	POS	POS	NEG	NEG	ENA-78	G-CSF	GM-CSF	GRO	GRO- α	I-309	IL-1 α	IL-1 β
2	POS	POS	NEG	NEG	ENA-78	G-CSF	GM-CSF	GRO	GRO- α	I-309	IL-1 α	IL-1 β
3	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-10	IL-12p40p70	IL-13	IL-15	IFN- γ
4	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-10	IL-12p40p70	IL-13	IL-15	IFN- γ
5	MCP-1	MCP-2	MCP-3	MCSF	MDC	MIG	MIP-15	KANIES	SDF	SDF1	TARC	IGF β
6	MCP-1	MCP-2	MCP-3	MCSF	MDC	MIG	MIP-15	KANIES	SDF	SDF1	TARC	IGF β
7	TNF- α	TNF- β	EGF	IGF-1	Angiogenin	Oncostatin M	Thrombopoietin	VEGF	PDGFBB	Leptin	NEG	POS
8	TNF- α	TNF- β	EGF	IGF-1	Angiogenin	Oncostatin M	Thrombopoietin	VEGF	PDGFBB	Leptin	NEG	POS

圖九、男性 PD 患者(ND1298)與控制組(ND1908)淋巴細胞株經 LPS 誘導後各種 cytokines 表現量的差異。-LPS：表示未以 LPS 處理，+LPS：以 LPS 100 ng/ml 處理 6 小時。(A) Cytokine antibody array 表現量，POS：為正控制組，NEG：為負控制組。(B) Cytokine antibody array 圖譜，表示 A 圖中各處理每種 cytokines 的位置。



B.

	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
1	POS	POS	NEG	NEG	ENA-78	GCSF	GM-CSF	GRO	GRO- α	I-309	IL-1 α	IL-1 β
2	POS	POS	NEG	NEG	ENA-78	GCSF	GM-CSF	GRO	GRO- α	I-309	IL-1 α	IL-1 β
3	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-10	IL-12p40p70	IL-13	IL-15	IFN- γ
4	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-10	IL-12p40p70	IL-13	IL-15	IFN- γ
5	MCP-1	MCP-2	MCP-3	MCSF	MDC	MIG	MIP-1 δ	KANTIE δ	SDF	SDF1	IGFBP	IGFBP
6	MCP-1	MCP-2	MCP-3	MCSF	MDC	MIG	MIP-1 δ	KANTIE δ	SDF	SDF1	IGFBP	IGFBP
7	TNF- α	TNF- β	EGF	IGF-1	Angio genin	Oncostatin M	Thrombopoietin	VEGF	PDGFBB	Leptin	NEG	POS
8	TNF- α	TNF- β	EGF	IGF-1	Angio genin	Oncostatin M	Thrombopoietin	VEGF	PDGFBB	Leptin	NEG	POS

圖十、女性 PD 患者(ND1296)與控制組(ND2105)淋巴細胞株經 LPS 誘導後各種 cytokines 表現量的差異。-LPS：表示未以 LPS 處理，+LPS：以 LPS 100 ng/ml 處理 6 小時。(A) Cytokine antibody array 表現量，POS：為正控制組，NEG：為負控制組。(B) Cytokine antibody array 圖譜，表示 A 圖中各處理每種 cytokines 的位置。

表一、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 基因多型性之檢測方法

多型性	引子對	煉合溫度	限制酶
		MgCl ₂	檢測(bp)
IL-1 β	F:TGGCATTGATCTGGTTCATC	54°C	<i>Ava</i> I: CYCGRG
C-511T	R:CTTTAGGAATCTTCCCACTT	1.0 mM	(305 / 191, 114)
IL-6	F:TGACTTCAGCTTTACTCTTGT	55°C	<i>Nla</i> III: CATG
G-174C	R:CTGATTGGAAACCTTATTAAG	1.5 mM	(167 / 122, 45)
IL-8	F:CTTATCTTCACCATCATGATAG	57°C	<i>Mfe</i> I: CAATTG
T-251A	R:GGCTGCCAAGAGAGCCACGGCCCAGC	2.0 mM	(549 / 390, 159)

表二、RT-PCR 及 Real-time PCR 的引子對及反應條件

基因片段	引子對	增幅片段大小 (bp)	煉合溫度(°C)	MgCl ₂ (mM)	分析目的
TNF- α					
cDNA	F:ACAAGCCTGTAGCCCATGTT R:AAAGTAGACCTGCCAGACT	427	52	2.0	RT-PCR
cDNA	F:GCCCATGTTGTAGCAAACCC R:G TTCAGCCACTGGAGCTGC	50	依據廠商所提供的標準化步驟操作		Real-time PCR
IL-1 β					
cDNA	F: GCTGATGGCCCTAAACAGATG R: GCAGAGGTCCAGGTCCTGG	51	依據廠商所提供的標準化步驟操作		Real-time PCR
IL-8					
cDNA	F:TTGGCAGCCTTCCTGATTTCT R:CTTGGCAAACATGCACCTTCA	53	依據廠商所提供的標準化步驟操作		Real-time PCR
β -Actin					
cDNA	F: GGTCATCACCATTGGCAATG R: TCCTTCTGCATCCTGTCCG	210	60	1.5	RT-PCR 內生性控制組
cDNA	F: GGTCATCACCATTGGCAATG R: TGGAAGAGTGCCTCAGGGC	50	依據廠商所提供的標準化步驟操作		Real-time PCR 內生性控制組

表三、淋巴細胞株個別資料

淋巴 細胞株編號	TNF- α		IL-1 β	IL-8	年齡	性別	身份
	T-1031C	C-863A	C-511T	T-251A			
ND1296	TT	CC	CT	AT	60	女	PD
ND1298	CC	AA	TT	TT	61	男	PD
ND2105	CC	AA	TT	AT	63	女	NC
ND1908	TT	CC	TT	AT	62	男	NC
ND0519	TT	CC	CC	AT	57	女	PD
ND1830	CC	AA	CC	TT	57	男	PD

PD 為 Parkinson's disease 患者，NC 為未患 PD 疾病者。

表中 TNF- α T-1031C 與 C-863A 基因多型性是由馮宜欣所鑑定的結果。(馮, 2006)

表四、IL-1 β -511 C>T 多型性依年齡分析的基因型分佈及等位基因頻率

多型性	年齡	PD 患者族群		控制組		Odds ratio ^ψ (95% CI)	P
		No.	(%)	No.	(%)		
基因型	All	N=391		N=213			
CC		117	(29.9)	58	(27.2)	1.09 (0.73-1.61)	0.678
CT		199	(50.9)	109	(51.2)	1.00	
TT		75	(19.2)	46	(21.6)	0.89 (0.58-1.39)	0.610
等位基因							
C		433	(55.4)	225	(52.8)		
T		349	(44.6)	201	(47.2)		
基因型	>50 years	N=294		N=179			
CC		84	(28.6)	48	(26.8)	1.09 (0.70-1.69)	0.716
CT		150	(51.0)	93	(52.0)	1.00	
TT		60	(20.4)	38	(21.2)	0.98 (0.61-1.59)	0.931
等位基因							
C		318	(54.1)	189	(52.8)		
T		270	(45.9)	169	(47.2)		
基因型	>60 years	N=214		N=108			
CC		55	(25.7)	29	(26.9)	0.90 (0.52-1.57)	0.706
CT		116	(54.2)	55	(50.9)	1.00	
TT		43	(20.1)	24	(22.2)	0.85 (0.47-1.55)	0.590
等位基因							
C		226	(52.8)	113	(52.3)		
T		202	(47.2)	103	(47.7)		
基因型	>70 years	N=96		N=55			
CC		26	(27.1)	18	(32.7)	0.79 (0.36-1.71)	0.540
CT		46	(47.9)	25	(45.5)	1.00	
TT		24	(25.0)	12	(21.8)	0.54 (0.21-1.39)	0.202
等位基因							
C		98	(51.0)	61	(55.5)		
T		94	(49.0)	49	(44.5)		

^ψ基因型或對偶基因頻率分佈有顯著差異之多型性，進行相對危險性檢測(odds ratio 分析)是以族群中較常見的對偶基因作為比較的基礎，分析不同基因型的同型合子及異型合子的罹患 PD 的相對危險性利用。

表五、IL-1 β -511 C>T 多型性依性別分析的基因型分佈及等位基因頻率

多型性	性別	PD 患者族群		控制組		Odds ratio ^ψ (95% CI)	P
		No.	(%)	No.	(%)		
基因型	女性	N=183		N=87			
	CC	63	(34.4)	19	(21.8)	1.81 (0.98-3.41)	0.062
	CT	90	(49.2)	49	(56.4)	1.00	
	TT	30	(16.4)	19	(21.8)	0.86 (0.44-1.70)	0.660
等位基因							
	C	216	(59.0)	87	(50.0)		
	T	150	(41.0)	87	(50.0)		
基因型	男性	N=208		N=126			
	CC	54	(26.0)	39	(31.0)	0.76 (0.45-1.28)	0.305
	CT	109	(52.4)	60	(47.6)	1.00	
	TT	45	(21.6)	27	(21.4)	0.92 (0.52-1.64)	0.768
等位基因							
	C	217	(52.2)	138	(54.8)		
	T	199	(47.8)	114	(45.2)		

^ψ Odds ratio 的計算是最常見的基因型 CT 作為比較的標準。

表六、IL-8 -251 T>A 多型性依年齡分析的基因型分佈及等位基因頻率

多型性	年齡	PD 患者族群		控制組		Odds ratio ^ψ (95% CI)	P
		No.	(%)	No.	(%)		
基因型	All	N=317		N=136			
TT		128	(40.4)	61	(44.9)	0.82 (0.54-1.27)	0.390
TA		147	(46.4)	58	(42.6)	1.00	
AA		42	(13.2)	17	(12.5)	0.97 (0.52-1.89)	0.938
等位基因							
T		403	(63.6)	180	(66.2)		
A		231	(36.4)	92	(33.8)		
基因型	>50 years	N=239		N=122			
TT		99	(41.4)	56	(45.9)	0.84 (0.52-1.35)	0.472
TA		105	(43.9)	50	(41.0)	1.00	
AA		35	(14.7)	16	(13.1)	1.04 (0.53-2.10)	0.906
等位基因							
T		303	(63.4)	162	(66.4)		
A		175	(36.6)	82	(33.6)		
基因型	>60 years	N=175		N=71			
TT		71	(40.6)	31	(43.7)	0.89 (0.49-1.61)	0.693
TA		80	(45.7)	31	(43.7)	1.00	
AA		24	(13.7)	9	(12.7)	1.03 (0.44-2.57)	0.941
等位基因							
T		222	(63.4)	93	(65.5)		
A		128	(36.6)	49	(34.5)		
基因型	>70 years	N=78		N=35			
TT		31	(39.7)	15	(42.9)	0.85 (0.36-1.99)	0.703
TA		39	(50.0)	16	(45.7)	1.00	
AA		8	(10.3)	4	(11.4)	0.82 (0.22-3.42)	0.771
等位基因							
T		101	(64.7)	46	(65.7)		
A		55	(35.3)	24	(34.3)		

^ψOdds ratios的計算是以PD患者出現頻率較高基因型TA作為比較的標準。

表七、IL-8 -251 T>A 多型性依性別分析的基因型分佈及等位基因頻率

多型性	性別	PD 患者族群		控制組		Odds ratio ^ψ (95% CI)	P
		No.	(%)	No.	(%)		
基因型	女性	N=143		N=54			
TT		64	(44.7)	22	(40.7)	1.19 (0.61-2.35)	0.608
TA		61	(42.7)	25	(46.3)	1.00	
AA		18	(12.6)	7	(13.0)	1.05 (0.40-2.99)	0.917
等位基因							
T		189	(66.1)	69	(63.9)		
A		97	(33.9)	39	(36.1)		
基因型	男性	N=174		N=82			
TT		64	(36.8)	39	(47.6)	0.63 (0.36-1.10)	0.109
AT		86	(49.4)	33	(40.2)	1.00	
AA		24	(13.8)	10	(12.2)	0.92 (0.41-2.21)	0.848
等位基因							
T		214	(61.5)	111	(67.7)		
A		134	(38.5)	53	(32.3)		

^ψOdds ratios的計算是以頻率較高基因型TA作為比較的標準。

表八、IL-6 -174 G>C 多型性基因型分佈及等位基因頻率

多型性	PD 患者族群		控制組	
	No.	(%)	No.	(%)
基因型	N=366	N=214		
GG	365	(99.07)	214	(100)
GC	1	(0.03)	0	(0)
CC	0	(0)	0	(0)
等位基因				
G	366	(99.9)	214	(100)
C	1	(0.01)	0	(0)