

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

TGF- β s, TG2, Apoptosis, GFAP, NF, P substance 和
Dopamine 參與鼠腦部犬蛔蟲症神經系統病變之分子免疫病
理機制之研究(1/2)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC94-2320-B-038-025-

執行期間：94年08月01日至95年07月31日

執行單位：臺北醫學大學寄生蟲學科

計畫主持人：范家范

共同主持人：蘇霽靄

計畫參與人員：范家范； 蘇霽靄 高定昌 廖建維

報告類型：精簡報告

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 95 年 5 月 26 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫期中報告

計畫名稱：TGF- β s, TG2, Apoptosis, GFAP, NF, P substance和Dopamine參與鼠腦部犬蛔蟲症神經系統病變之分子免疫病理機制之研究(1/2)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：94-2320-B-038-025

執行期間：94.08.01-95.7.31

計畫主持人：范家堃 副教授

共同主持人：蘇霏靄 副教授

執行單位：臺北醫學大學寄生蟲學科

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)：期中報告 期末報告

中 華 民 國 九 十 五 年 五 月 二 十 九 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫期中報告

計畫編號：94-2320-B-038-025

執行期限：94年8月1日至95年8月31日

主持人：范家堃 副教授 單位名稱：臺北醫學大學寄生蟲學科

共同主持人：蘇霏靄 副教授 單位名稱：臺北市立萬芳醫院消化內科

一、摘要

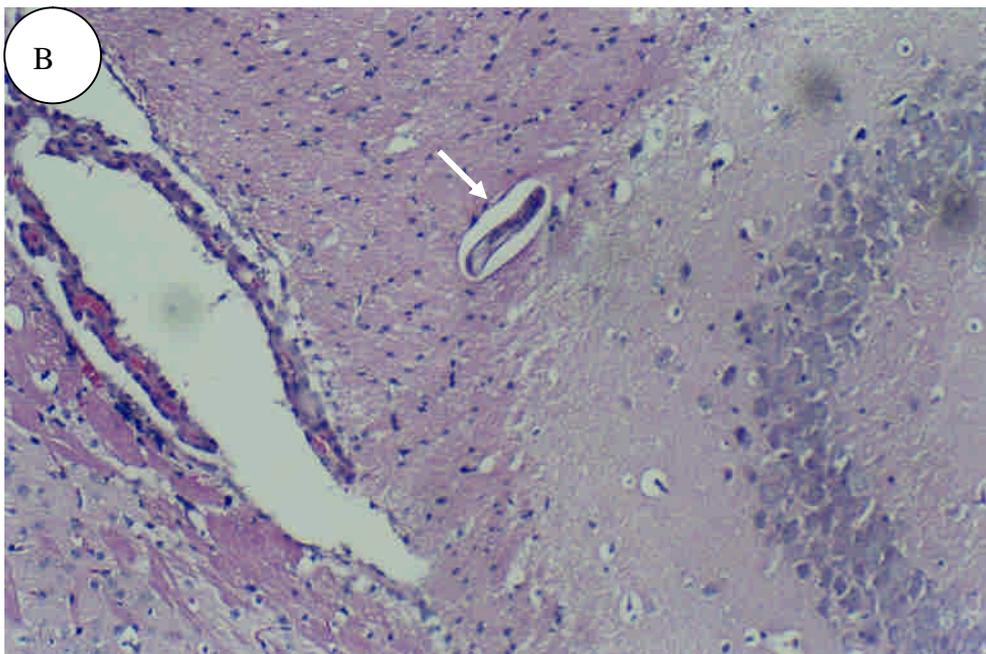
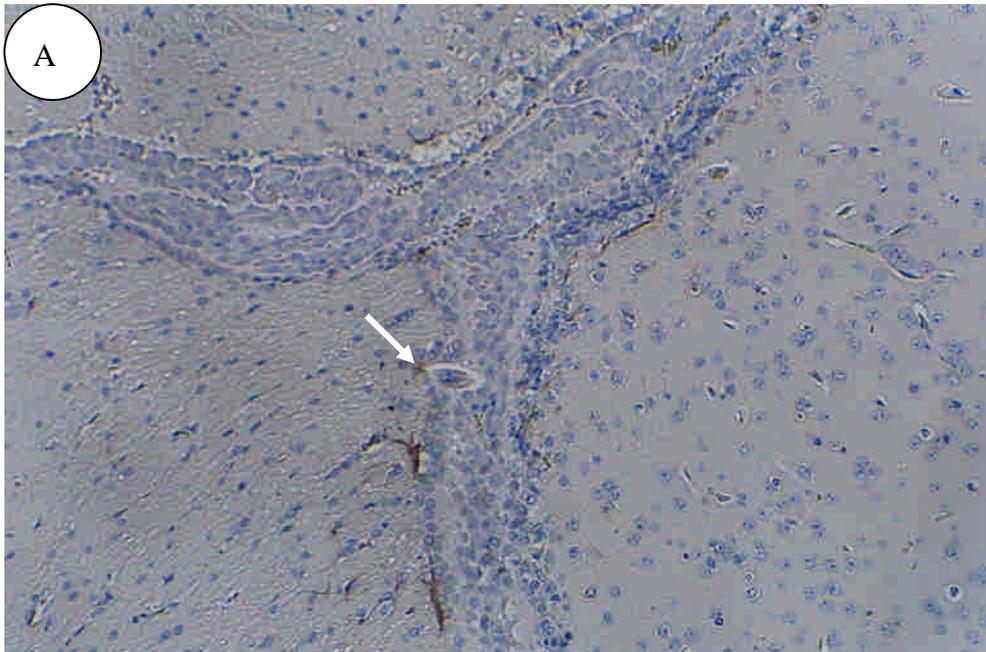
本計劃欲以兩年時間探討細胞激素轉型生長因子、組織麩胺酸轉胺酶、神經傳導化學物質與細胞凋亡(apoptosis)於神經性犬蛔蟲症病變中的基因與蛋白質層次的表現情形，以探究「腦部犬蛔蟲症之神經系統病變」之分子免疫病理機轉。

每個實驗組包含5隻感染鼠與2隻未感染控制組鼠。鼯鼠感染約250-300個犬蛔蟲感染性蟲卵(約11個月齡)後，於第3天、第7天、第28天、第56天、第84天與112天，以乙醚深度麻醉後，用心臟採血至死亡後，摘取腦部，將腦部分成4部分：**第1部分**腦部組織用以進行「幼蟲回收實驗」，以確認幼蟲是否成功入侵小鼠腦部；**第2部分**腦部組織包埋成蠟塊，以製作成切片，用以進行「組織病理染色與判讀」和「組織免疫化學染色」研究；**第3,4部分**腦部組織則以液態氮儲存，用以進行「RT-PCR」和「Western blotting」分析，以探究TGF- β s、TG 2、apoptosis、NF、GFAP、Substance P 和DP於基因與蛋白質層次的表現情形。

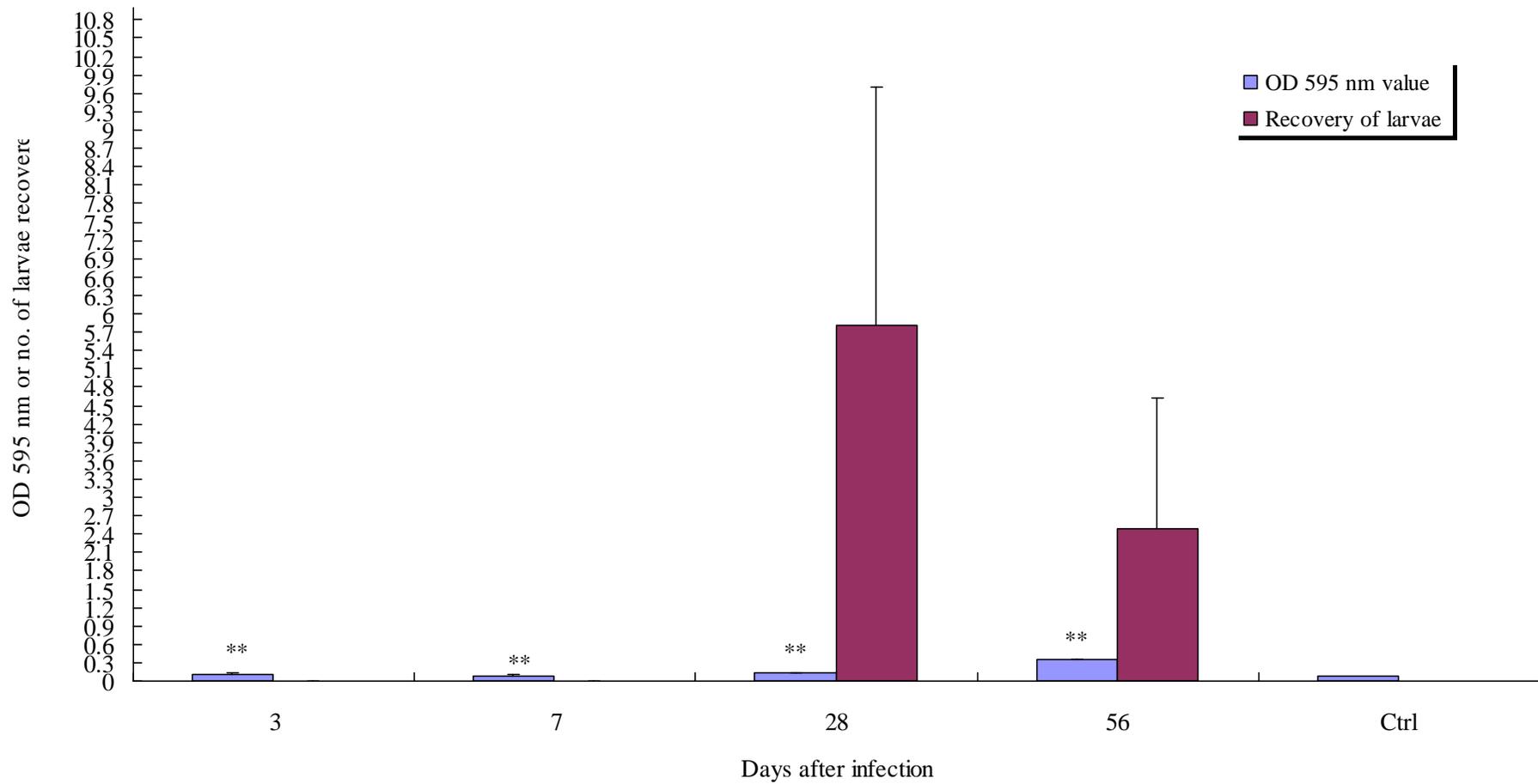
目前初步的結果顯示：腦屏蔽通透組(BBB Gr.)和腦屏蔽功能損傷組(Injury Gr.)實驗鼯鼠於感染犬蛔蟲蟲卵後，於第3天、第7天、第28天與第56天以乙醚深度麻醉心臟採血致死後，取出腦部進行腦屏蔽通透和腦屏蔽功能損傷分析。BBB Gr.鼠自尾部靜脈打入Evans blue後1小時進行解剖，取出腦部後以1ml PBS於冰上研磨後，加以離心將上清液置於96孔微量滴定盤中於595 nm下檢測吸光值，每組共7隻鼠進行檢測(duplicate/mouse)，結果顯示自感染後第3天至第56天感染組鼠吸光值皆較控制組高($P < 0.001$)；離心後之腦部沈積物進行幼蟲回收計數，結果顯示：於感染後第第28天與第56天可自腦部看到幼蟲。以上結果顯示犬蛔蟲幼蟲入侵腦部後的確可導致腦屏蔽通透性增加。由腦屏蔽功能損傷指標Ratio of CSF/serum albumin的數值於感染後第7天與第56天皆較未感染組高($P < 0.001$)，顯示受感染的小鼠腦屏蔽發生損傷；組織病理切片顯示：第3與第4腦室之脈絡叢(choroid plexus)可見犬蛔蟲幼蟲入侵，但並不見發炎反應。組織免疫化學染色顯示各種腦部細胞皆可見TGF- β 1的表現，而只有astrocyte可見明顯的GFAP的表現，而S100於各種腦部細胞皆可見，顯示被幼蟲入侵的脈絡叢(choroid plexus)週邊腦組織發生astrogliosis現象。西方墨點分析顯示：不論TGF- β 1、GFAP和S100皆較未感染的控制組鼠相對高1.5至4倍 ($P < 0.001$)。

結果與討論

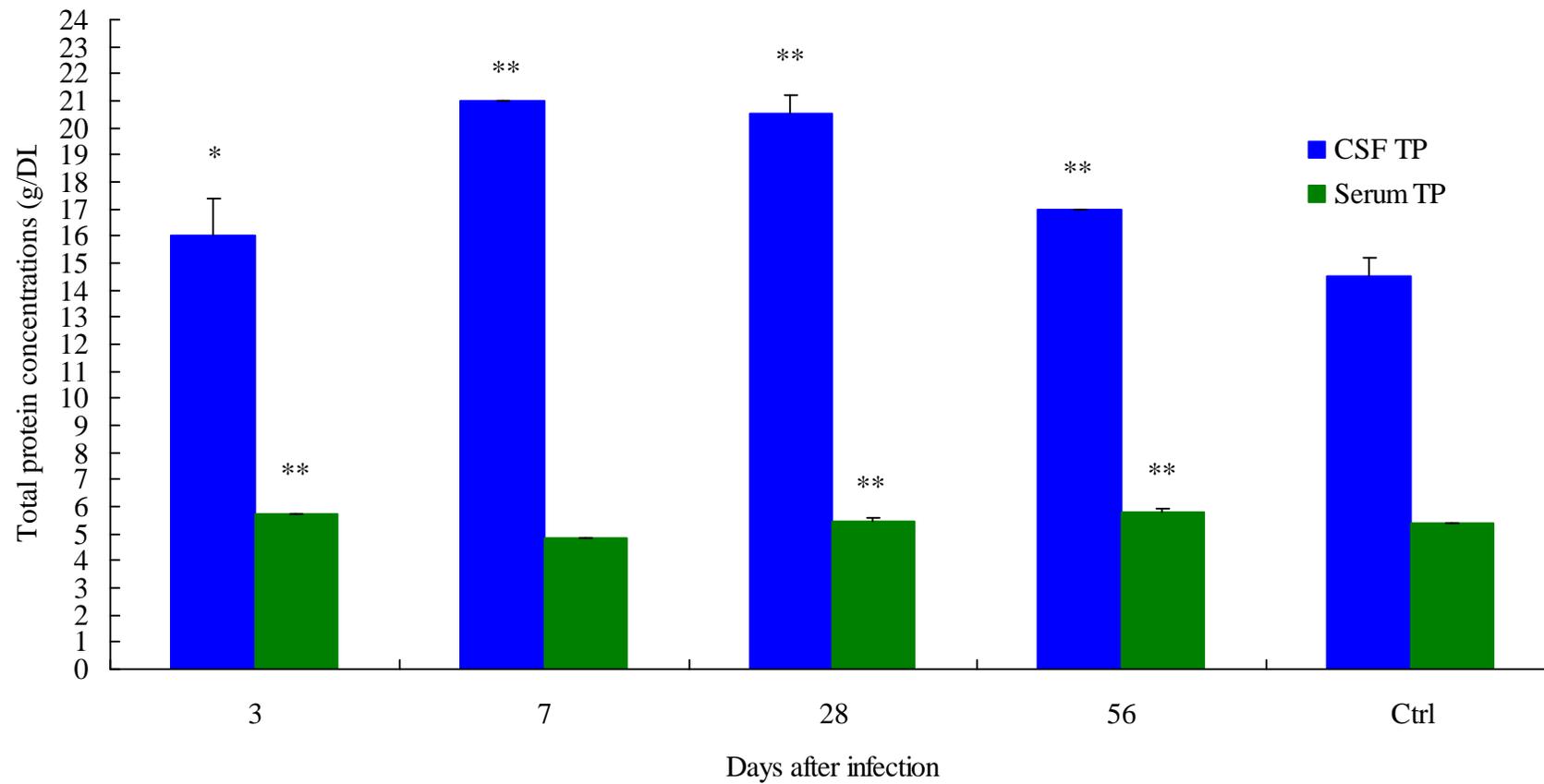
壹、感染後第 28 天(A)與第 56 天(B)鼠腦部病變，幼蟲(箭頭)侵犯脈絡叢(choroid plexus)



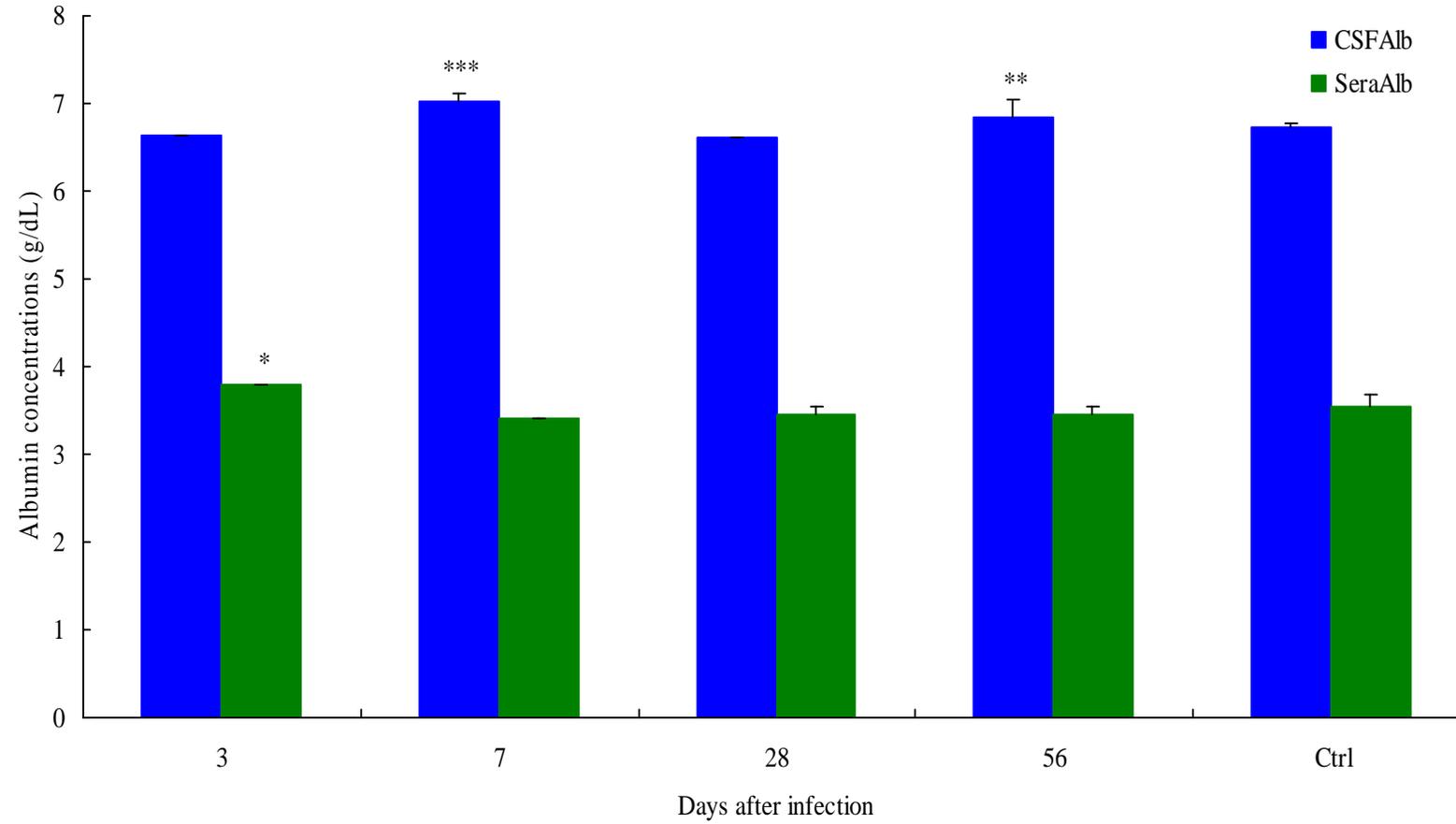
貳、感染鼠腦屏蔽通透性於感染後第 3、7、28 與第 56 天皆較控制組高($P < 0.001$)。此外於感染後第 28 天開始可見入侵腦部的幼蟲。



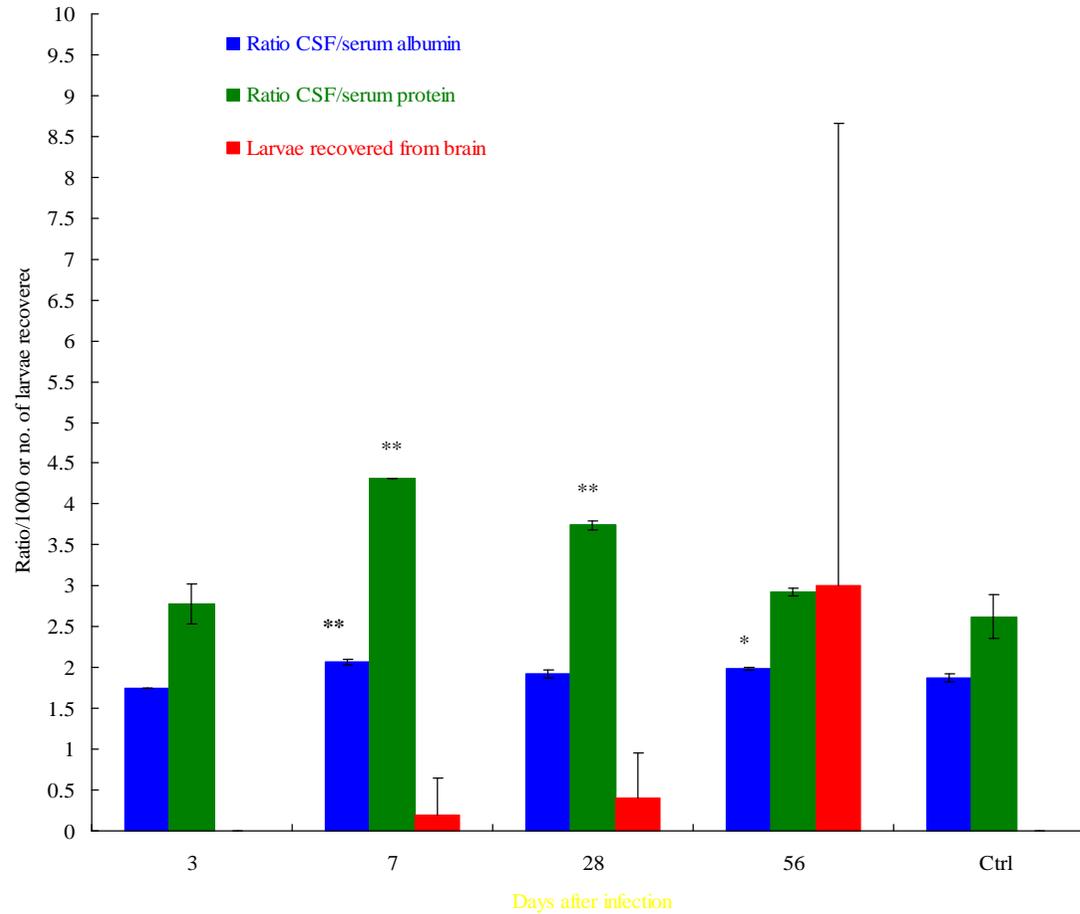
參、感染鼠於 CSF 中 total protein 於感染後第 3、7、28 與第 56 天皆較控制組高($P < 0.05$)。而血清中 total protein 於感染後第 3、28 與第 56 天皆較控制組高($P < 0.05$)。顯示鼠腦屏障受損。



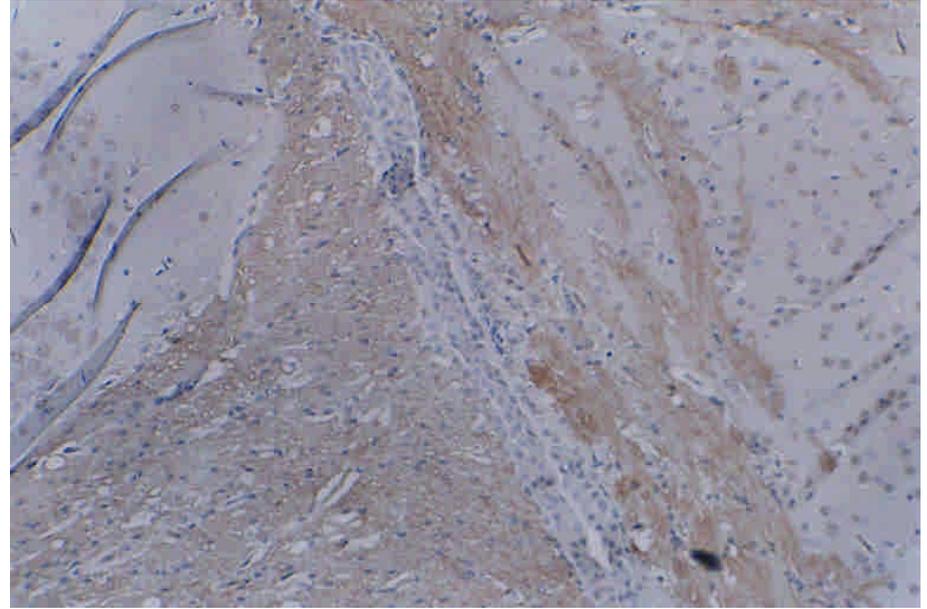
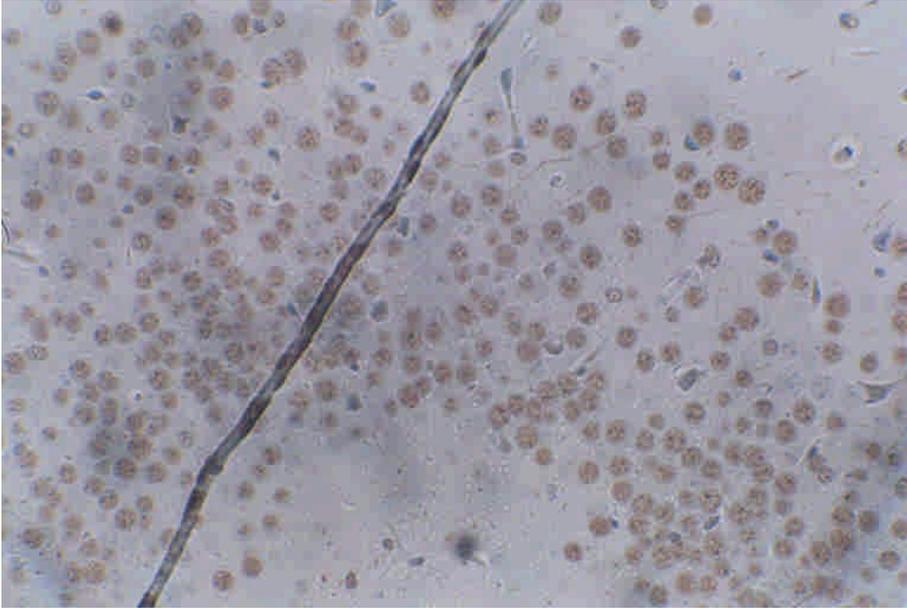
肆、感染鼠於 CSF 中 albumin 於感染後第 7 與第 56 天皆較控制組高($P < 0.05$)。而血清中 albumin 則只於感染後第 3 天皆較控制組高($P < 0.05$)。顯示鼠腦屏蔽受損。



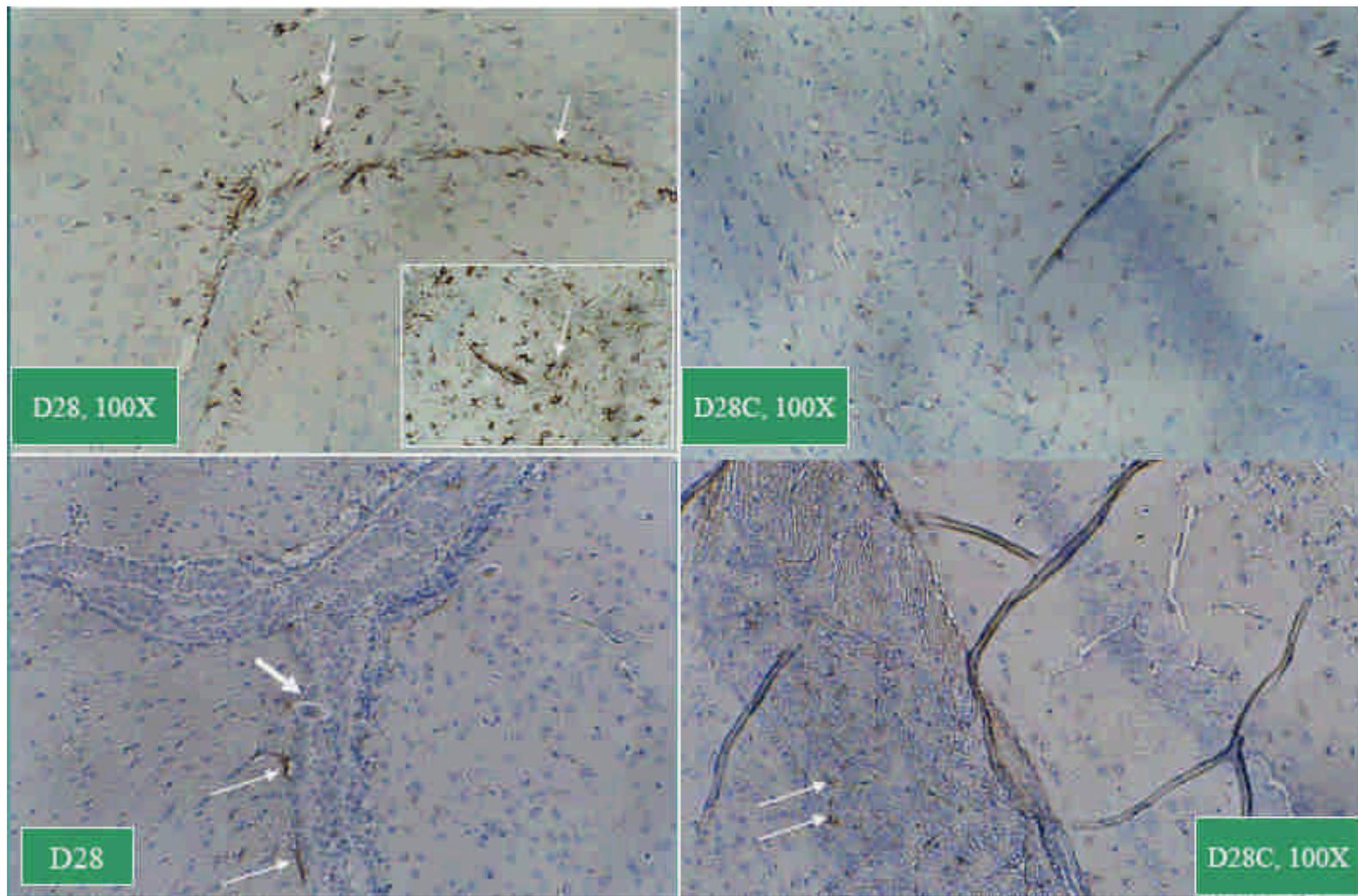
伍、感染鼠於 CSF/serum 中 albumin 比值於感染後第 7 與第 56 天皆較控制組高($P < 0.05$)。而 CSF/serum 中 total protein 比值於感染後第 7 與第 28 天皆較控制組高($P < 0.05$)。顯示鼠腦屏障受損。此外於感染後第 7 天開始即可見入侵腦部的幼蟲且隨感染時間增加而增加。

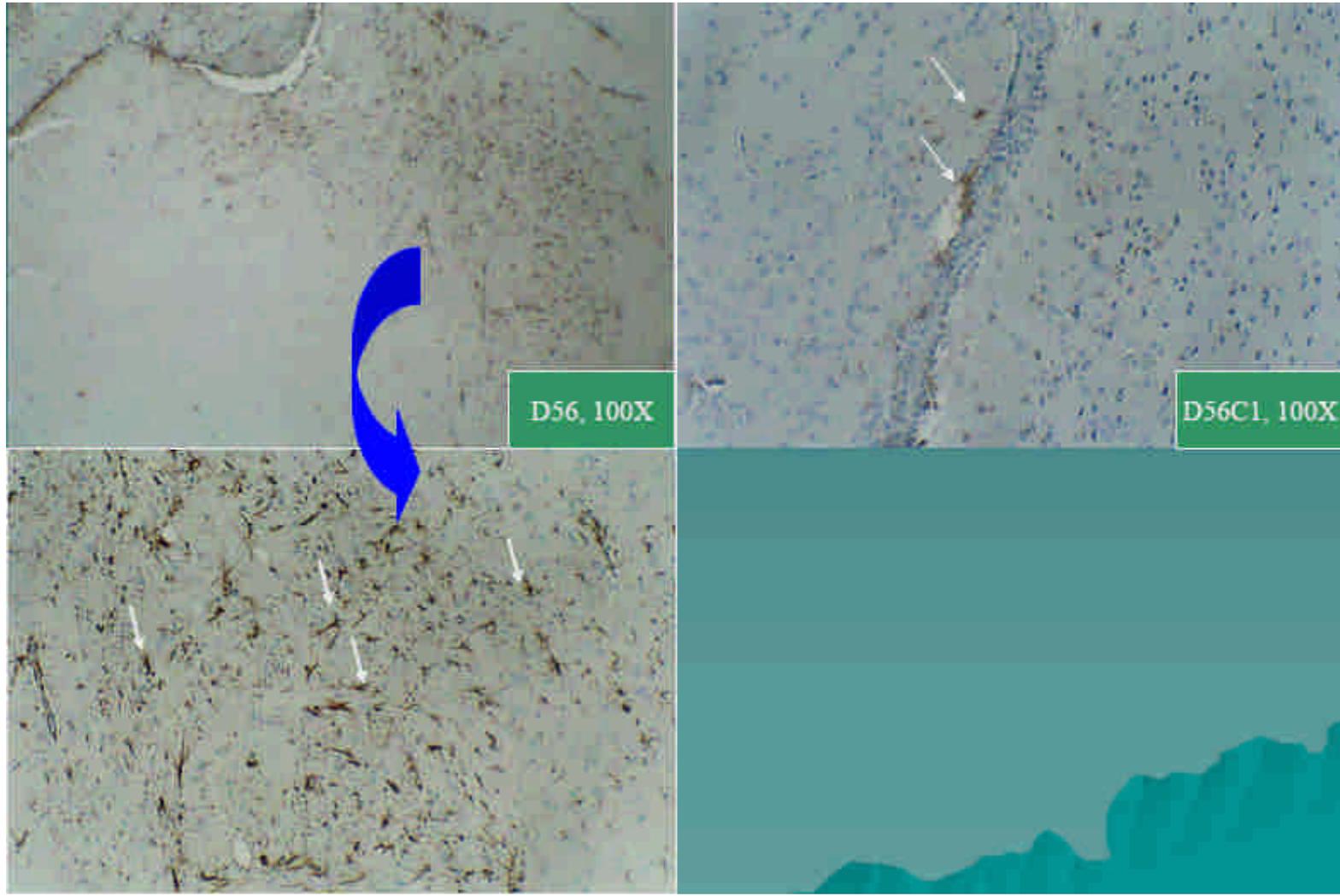


陸、感染後第 28 與第 56 天鼠腦部可見明顯 TGF- β 1 表現。

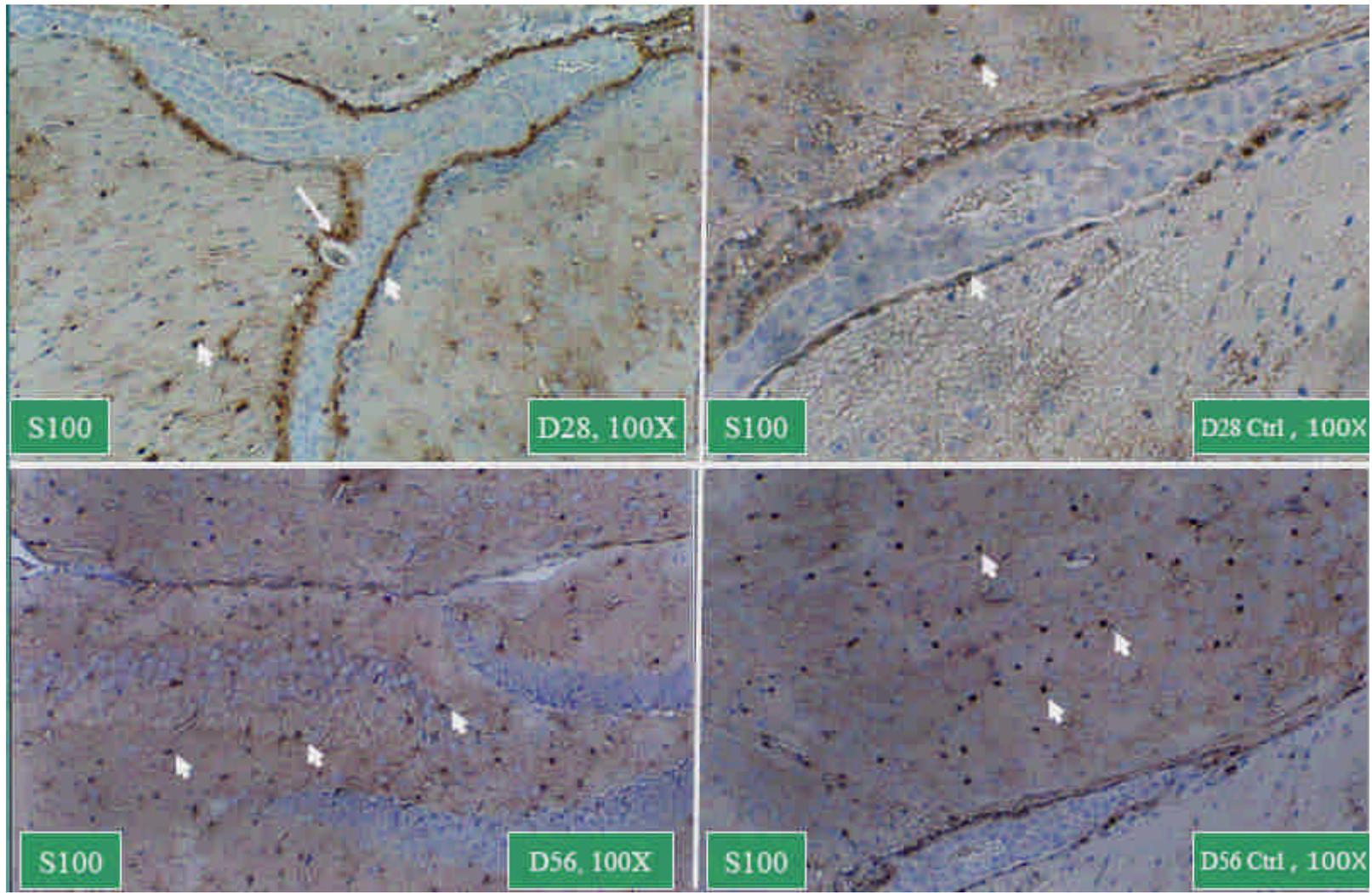


柒、感染後第 28 與第 56 天鼠腦部可見明顯 GFAP 表現。顯示腦部出現 astrogliosis 現象，此意味腦部受到損傷後的自我修復現象。





捌、感染後第 28 與第 56 天鼠腦部可見明顯 S100 表現。顯示腦部受到損傷。



玖、感染後第 3、7、28 與第 56 天鼠腦部 TGF- β 1、GFAP 和 S100 西方墨點分析顯示：感染後第 28 與第 56 天此 3 項蛋白質明顯較控制組異常增加。

