

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 伽瑪型過氧化酶體增殖劑活化受體在調節弓蟲性腦炎之機轉 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型  
計畫編號：NSC 100-2320-B-040-008-  
執行期間：100年08月01日至101年07月31日  
執行單位：中山醫學大學醫學系

計畫主持人：賴世展

計畫參與人員：此計畫無其他參與人員

公開資訊：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

中華民國 101 年 10 月 02 日

中文摘要：過氧化酶體增殖因子活化受體 (peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs) gamma (PPAR  $\gamma$ ) 被發現可以調節發炎反應，且 PPAR  $\gamma$  活化劑 (agonists) 可以充當神經保護劑。弓漿蟲 (*Toxoplasma gondii*) 能感染絕大部分的哺乳類動物，包括人。當弓漿蟲感染免疫不全的宿主常會誘發弓漿蟲性腦炎 (toxoplasmic encephalitis)。本研究利用弓漿蟲速殖子 (tachyzoite) 感染星狀膠細胞 (astroglia) 的細胞模式進行研究，探討 PPAR  $\gamma$  和促發炎酵素 (pro-inflammatory enzymes) 的變化。環氧化酶 (cyclooxygenases, COX) -2 和誘發型一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthases, iNOS) 蛋白表現量在感染後第 1 小時到第 24 小時的細胞均質液中有明顯的增加。另外，在 PPAR  $\gamma$  活化劑 rosiglitazone 作用組中，MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 的表現有顯著的減少；相對的，MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 會因為 PPAR  $\gamma$  拮抗劑 (antagonists) GW9662 的處理而有顯著的增加。綜合上述結果，PPAR  $\gamma$  在弓漿蟲感染星狀膠細胞過程中可以調節 NF- $\kappa$ B 的表現，進而影響到 MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 的表現。再者，在弓漿蟲誘發腦炎的過程中 rosiglitazone 或許可以提供另一種保護作用。

中文關鍵詞：弓漿蟲、過氧化酶體增殖因子活化受體、腦炎

英文摘要：Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR  $\gamma$ ) was found to regulate inflammation and its agonists as neuroprotective agents. In situations of *Toxoplasma gondii* infection, the parasite may emerge toxoplasmic encephalitis in human. The aim of this study is to investigate the association between PPAR  $\gamma$  and pro-inflammatory enzymes expression in astroglia infected with *T. gondii* tachyzoite in vitro. Our results showed that cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric-oxide synthase (iNOS) were significantly increased at 1 h post-infection (PI) to 24 h PI in the cell homogenates. Furthermore, the expression of MMP-2, MMP-9, COX-2 and iNOS were significantly decreased by rosiglitazone, PPAR  $\gamma$  agonists. In contrast, treatment with GW9662, PPAR  $\gamma$  antagonists, efficiently increased MMP-2, MMP-9, COX-2 and iNOS expression. These results suggested that PPAR  $\gamma$  could regulate NF- $\kappa$ B activation and subsequently affected the production of MMP-2, MMP-9,

COX-2 and iNOS. In addition, treated with rosiglitazone might offer a potential way for control inflammatory development of *T. gondii*-induced encephalitis.

英文關鍵詞： *Toxoplasma gondii* ; PPAR ; encephalitis

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫  成果報告  期中進度報告

(計畫名稱)

**Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in toxoplasmic encephalitis**

伽瑪型過氧化酶體增殖劑活化受體在調節弓蟲性腦炎之機轉

計畫類別： 個別型計畫  整合型計畫

計畫編號：NSC 100-2320-B-040-008-

執行期間：2011 年 08 月 01 日至 2012 年 07 月 31 日

計畫主持人：賴世展

共同主持人：

計畫參與人員：

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告  完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年  二年後可公開查詢

執行單位：中山醫學大學

中 華 民 國 2012 年 10 月 3 日

## 目錄

中文摘要 .....	3
英文摘要 .....	3
前言 .....	4
材料與方法 .....	5
結果 .....	9
討論 .....	11
參考文獻 .....	13
圖、表 .....	18
計劃成果自評 .....	27

## 中文摘要

### 中文摘要

過氧化酶體增殖因子活化受體

(peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs) gamma (PPAR $\gamma$ ) 被發現可以調節發炎反應，且 PPAR $\gamma$  活化劑 (agonists) 可以充當神經保護劑。弓漿蟲 (*Toxoplasma gondii*) 能感染絕大部分的哺乳類動物，包括人。當弓漿蟲感染免疫不全的宿主常會誘發弓漿蟲性腦炎 (toxoplasmic encephalitis)。本研究利用弓漿蟲速殖子 (tachyzoite) 感染星狀膠細胞 (astroglia) 的細胞模式進行研究，探討 PPAR $\gamma$  和促發炎酵素 (pro-inflammatory enzymes) 的變化。環氧化酶 (cyclooxygenases, COX) -2 和誘發型一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthases, iNOS) 蛋白表現量在感染後第 1 小時到第 24 小時的細胞均質液中有明顯的增加。另外，在 PPAR $\gamma$  活化劑 rosiglitazone 作用組中，MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS

的表現有顯著的減少；相對的，MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 會因為 PPAR $\gamma$  拮抗劑 (antagonists) GW9662 的處理而有顯著的增加。綜合上述結果，PPAR $\gamma$  在弓漿蟲感染星狀膠細胞過程中可以調節 NF- $\kappa$ B 的表現，進而影響到 MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 的表現。再者，在弓漿蟲誘發腦炎的過程中 rosiglitazone 或許可以提供另一種保護作用。

關鍵詞：弓漿蟲、過氧化酶體增殖因子活化受體、腦炎

### 英文摘要

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) was found to regulate inflammation and its agonists as neuroprotective agents. In situations of *Toxoplasma gondii* infection, the parasite may emerge toxoplasmic encephalitis in human. The aim of this study is to investigate the association between PPAR $\gamma$  and pro-inflammatory enzymes expression in astroglia infected

with *T. gondii* tachyzoite in vitro. Our results showed that cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric-oxide synthase (iNOS) were significantly increased at 1 h post-infection (PI) to 24 h PI in the cell homogenates. Furthermore, the expression of MMP-2, MMP-9, COX-2 and iNOS were significantly decreased by rosiglitazone, PPAR $\gamma$  agonists. In contrast, treatment with GW9662, PPAR $\gamma$  antagonists, efficiently increased MMP-2, MMP-9, COX-2 and iNOS expression. These results suggested that PPAR $\gamma$  could regulate NF- $\kappa$ B activation and subsequently affected the production of MMP-2, MMP-9, COX-2 and iNOS. In addition, treated with rosiglitazone might offer a potential way for control inflammatory development of *T. gondii*-induced encephalitis.

Keywords : *Toxoplasma gondii*; PPAR; encephalitis

## 前言

弓漿蟲 (*Toxoplasma gondii*) 是專性細胞內寄生之原蟲，可寄生於絕大部分有核之哺乳動物細胞中，當弓漿蟲感染到人類時，可能造成弓漿蟲性腦炎 (toxoplasmic encephalitis) (Sabin and Olitsky, 1937)。另外，弓漿蟲性腦炎主要的組織病理學特徵為弓漿蟲速殖子感染星狀細胞並在細胞內大量複製，隨後活化細胞產生免疫反應或在細胞內形成囊體 (Hunter et al., 1992a, b; Daubener et al., 1993)。在被弓漿蟲感染的情況下，此寄生蟲會引發一些發炎物質，例如：環氧化酶 (cyclooxygenases, COX)-2 (Kim et al., 2006) 或誘發型一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthases, iNOS) (Taubert et al., 2006)。

過氧化酶體增殖因子活化受體 (peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs) 是核受體 (nuclear receptor; nuclear hormone receptor family) 家族成員，且可分為  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  三個次家族，其與細胞的生理和與各種配體連接後所產生的特異性作用，都具有緊密的相關作用 (Desvergne and Wahli, 1999)，除此之外，PPAR $\gamma$  亦

被證實可以調控發炎反應 (Landreth and Heneka, 2001; Hovsepian et al., 2011), 且其在微小膠細胞 (microglia) 或星狀細胞 (astrocyte) 中的活化, 亦扮演著降低促發炎細胞激素 (pro-inflammatory cytokines) 和神經毒素物質 (neurotoxic substances) 分泌的角色 (Storer et al., 2005)。基質金屬蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) -2 (gelatinase A) 及 MMP-9 (gelatinase B) 也和很多的中樞神經系統 (central nervous system, CNS) 疾病有所關聯 (Benesová et al., 2009; Lu and Lai, 2012)。這些 MMPs 的啟動子 (promoter) 可以被核轉錄因子-kappa B (nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B) 所活化 (Shih et al., 2010; Lu and Lai, 2012)。而可調節 MMPs 的 NF- $\kappa$ B 也易受到 PPAR  $\gamma$  的緊密網絡所調節 (Ricote et al., 1998)。

弓漿蟲症的世界性分布, 對人類健康與經濟動物的影響甚鉅, 由於國人飲食逐漸傾向歐美化, 生食或食用未煮熟肉類的飲食習慣漸增, 感染弓漿蟲的機會因而提高, 加上近年來愛滋病在台灣日趨嚴重, 因此弓漿蟲症

的研究在台灣日益重要。另外, MMP-2 和 MMP-9 已逐漸的被證實與 CNS 疾病有關且在弓漿蟲感染人類腦細胞株星狀膠細胞 (astroglia) 的過程中, MMP-2 和 MMP-9 會藉由 Erk1/2-NF- $\kappa$ B 的訊息傳遞作用而產生 (Lu and Lai, 2012), 但 MMP-2、MMP-9 和 NF- $\kappa$ B 被 PPAR  $\gamma$  調節相關性以及弓漿蟲性腦炎扮演什麼樣的角色都還不是很清楚, 因此本研究以弓漿蟲速殖子感染人類腦細胞株星狀膠細胞, 誘發弓漿蟲性腦炎的細胞模式進行研究, 探討在此過程中 PPAR  $\gamma$  扮演的角色。

## 材料與方法

### 一、試劑 (reagents)

PPAR  $\gamma$  活化劑 rosiglitazone、PPAR  $\gamma$  拮抗劑 GW9662 和 rabbit anti-human COX-2 polyclonal antibodies 購買至 Cayman Chemical (Ann Arbor, MI, USA)。Rabbit anti-human iNOS polyclone antibody 和 rabbit anti-human NF- $\kappa$ B 與 p-NF- $\kappa$ B monoclonal antibody 購買至 R&D system (Minneapolis, MN, USA), 再由 Millipore (Temecula, CA) 購買 Rabbit



anti-human GFAP monoclonal antibody, mouse anti-human  $\beta$ -actin monoclonal antibody 購買至 Sigma-Aldrich Corporation (Saint Louis, MO, USA), Horseradish peroxidase (HRP) -conjugated bovine anti-rabbit IgG 和 HRP-conjugated goat anti-mouse IgG 從 Jackson ImmunoResearch Laboratories 購買 (West Grove, PA, USA)。本實驗將 rosiglitazone 和 GW9662 溶於 DMSO 中，而 DMSO 在培養皿中的最後濃度為 0.1%，故實驗中亦以相同的濃度 0.1% DMSO 作空白對照 (vehicle)。

## 二、細胞株

人類腦星狀膠細胞細胞株 SVG p12 (ATCC CRL-8621) 及人類包皮纖維母細胞 (Hs68, ATCC CRL-1635) 購自食品工業發展研究所菌種中心 (Bioresource Collection and Research Center, BCRC)。用含有 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、2 mM L-glutamine、0.1 mM NEAA、1.0 mM sodium pyruvate 及 1.5 g/L NaHCO<sub>3</sub> 的 Dulbecco's modified Eagle's medium

(DMEM) 培養基 (Gibco, Pascagoula, MS, USA) 在 35°C、5% CO<sub>2</sub> 及含有水氣之細胞培養箱繼代培養，細胞株的培養依照食品工業發展研究所菌種中心之標準操作方法。另外，使用於實驗的 SVG p12 細胞株都有用膠質細胞纖維酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 檢測。

## 三、弓漿蟲速殖子之製備

選用 TS-4 strain 弓漿蟲 (ATCC 40050) 感染星狀膠細胞，TS-4 strain 弓漿蟲購自 American Type Culture Collection (ATCC)。TS-4 strain 弓漿蟲利用含有 10% FBS、2 mM L-glutamine、0.1 mM NEAA、1.0 mM sodium pyruvate 及 1.5 g/L NaHCO<sub>3</sub> 的 DMEM 培養基之纖維母細胞在 35°C、5% CO<sub>2</sub> 及含有水氣之細胞培養箱中培養繁殖，弓漿蟲的培養繁殖依照 ATCC 之標準操作方法。另外，使用於實驗的 TS-4 strain 弓漿蟲在作為實驗感染源之前，我們會先將 TS-4 strain 弓漿蟲感染於人類包皮纖維母細胞 4 天，以確保用於實驗的 TS-4 strain 弓漿蟲具有感染性。

#### 四、體外試驗：弓漿蟲速殖子感染星狀膠細胞

在無菌操作台上將貼附於 75T FLASKS 內的星狀膠細胞以無菌的 phosphate buffered saline (PBS) 清洗 3 次，再加入 2 ml 25% 的 Trysine-EDTA (Gibco, Pascagoula, MS, USA) 於 75T FLASKS 內與細胞作用 2 分鐘，接著再加入 5 ml 含 FBS 的培養液終止 Trysine-EDTA 與細胞的作用，再將含有細胞之細胞培養液收集，以 1,500 g 離心 5 分鐘，去除上清液。接著將試驗分為六組，分別為未感染弓漿蟲速殖子之  $1 \times 10^6$  星狀膠細胞株並加入等量不含 FBS 培養液的未感染組及感染  $1 \times 10^4$  弓漿蟲速殖子後第 1 小時、第 6 小時、第 12 小時、第 24 小時、第 48 小時之感染組。

#### 五、弓漿蟲速殖子感染細胞後之細胞均質液 (cell homogenates) 的收集

在無菌操作台上將星狀膠細胞株培養 24 小時後，感染弓漿蟲速殖子，在感染後第 1、6、12、24 及 48 小時

將細胞收集起來。被感染細胞收集方式，先用 PBS 清洗三次，接著加入 mammalian cell lysis reagent (Fermentas, Hanover, MD, USA) 將細胞均質形成細胞均質液。最後將萃取出之新鮮含蛋白質之細胞均質液收集起來，並以 10,000 g 在 4°C 下離心 10 分鐘除去沉澱物，以 protein assay kits (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 進行蛋白質定量分析，並以 bovine serum albumin (BSA) (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO, USA) 為標準品，並放置於 -80 °C 冰箱保存。

#### 六、細胞的藥物處理

根據 COX-2 和 iNOS 不同時間點的試驗結果得知感染後第 6 小兩者蛋白量皆達到最大值，因此我們就選擇此時間做為 rosiglitazone 和 GW9662 處理的時間點。在 rosiglitazone 的處理過程中，隨機將弓漿蟲感染後的細胞分成五組：未感染組、感染弓漿蟲組、0.1 % DMSO vehicle 組、10  $\mu$  M rosiglitazone 處理組和 20  $\mu$  M rosiglitazone 處理組。另外用 GW9662 處理的組別其試驗過

程類似於 rosiglitazone 處理組別。接著在試驗後的第六小時將細胞收集起來，再加入 mammalian cell lysis reagent (Fermentas, Hanover, MD, USA) 將細胞均質形成細胞均質液。最後將萃取出之新鮮含蛋白質之細胞均質液收集起來並放置於 -80 °C 冰箱保存。

#### 七、受質酶普分析法 (substrate zymography)

將細胞均質液以 substrate zymography 來分析其中所有的蛋白質分解酶。膠體的配製法 (gel preparation) 與 SDS-polyacrylamide gel (SDS-PAGE) 相似，不同的是下層膠 (separating gel) 中加入 0.1 % 的 gelatin (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO, USA)。細胞均質液則在 10,000 g 在 4 °C 下離心 10 分鐘去除殘留物。將細胞均質液加入相等體積的 sample buffer 混合 loading 於 7.5% (w/v) 的 SDS-PAGE 中，膠體中含有受質 1% gelatin 用於測 gelatinase 活性。將膠體置於含電泳緩衝液的電泳裝置中以電壓 120V 的室溫下進行 1 個小時。膠體在室溫下用

2.5% Triton X-100 洗兩次，每次在搖擺器搖擺 30 分鐘，再用二次水洗兩次，每次 10 分鐘。再將膠體置於 reaction buffer 37°C 下反應 18 個小時，再用二次水洗兩次，每次 10 分鐘。接著膠體再利用 0.25% Coomassie brilliant blue R-250 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 染色 1 個小時，接著用 15% 甲醇和 7.5% 醋酸脫染色。在藍色背景的背景的膠下，除了在 MMPs 與受質反應的區域，可看到未染上色的 band 為 gelatinase 有活性的區域。Gelatinase enzyme 的定量分析是利用 computer-assisted imaging densitometer system, UN-SCAN-ITTM gel Version 5.1 (Silk Scientific, Provo, Utah, USA)。

#### 八、西方點墨法 (western blotting)

將細胞均質液加入等量的 sample buffer (0.5 M tris-HCl, pH 6.8, containing 2% glycerol, 10% SDS, 2-mercaptoethanol, 5% bromophenol blue) 混合加熱 5 分鐘後進行 SDS-PAGE 電泳，電泳結束後將蛋白質轉漬至 polyvinylidene fluoride

(PVDF) (Millipore, Temecula, CA)。將 PVDF 浸泡於含有 0.1% Tween 20 的 PBS (PBS-T) 於室溫下作用 30 分鐘。隨後將 PVDF 以以溶於 PBS 5% non-fat dry milk 在 37°C 反應 1 小時 (block 非特定的結合位置)，再以 PBS 清洗 10 分鐘，分別加入一級抗體 (primary antibody) 1:1,000 與 PVDF 於 4°C 作用 2 小時，以 PBS-T 清洗 PVDF 3 次，再加入對應之 HRP 連結的二級抗體 1:6,000 在 4°C 作用 45 分鐘，與附著於 PVDF 上的 primary antibody 作用，以 PBS-T 清洗 PVDF 3 次。再藉由 enhanced chemiluminescence (ECL) (Amersham Biosciences, Amersham, UK) 與 HRP 作用產生冷光，將 X 光片感光來加以偵測，接著偵測到的 bands 再利用 computer-assisted imaging densitometer system、UN-SCAN-IT™ gel Version 5.1 (Silk Scientific, USA) 定量分析。

#### 九、統計分析

各組分析所得數據以平均值加減一個標準差 (mean±SD) 表示，並且使用 Kruskal-Wallis test 進行統計分

析，再以 Dunn' s multiple comparison 事後檢定分析。P<0.05 表示有統計上顯著的意義。

## 結果

### 一、弓漿蟲感染星狀膠細胞後 COX-2 蛋白質的表現

藉由西方點墨法分析弓漿蟲感染星狀膠細胞後，細胞均質液中 72 kDa COX-2 蛋白質的表現。細胞均質液量化分析的結果顯示 COX-2 從感染後的第 1 小時到第 24 小時有顯著的增加，而在第 48 小時蛋白量減少到接近於未感染組，且上述結果在三重覆試驗皆相似 (圖一)。

### 二、弓漿蟲感染星狀膠細胞後 iNOS 蛋白質的表現

藉由西方點墨法分析弓漿蟲感染星狀膠細胞後，細胞均質液中 130 kDa iNOS 蛋白質的表現。細胞均質液量化分析的結果顯示 iNOS 從感染後的第 1 小時到第 24 小時達到最大值，且上述結果在三重覆試驗皆相似 (圖二)。

### 三、Rosiglitazone 處理後 COX-2 蛋白質的表現

藉由西方點墨法分析弓漿蟲感染星狀膠細胞在 rosiglitazone 處理後，細胞均質液中 72 kDa COX-2 蛋白質的表現。細胞均質液量化分析的結果顯示，相對於未感染組，感染組中 COX-2 蛋白質有顯著的增加。在 vehicle 和 10  $\mu$  M rosiglitazone 的組別中，COX-2 無明顯有意義的改變。而在 20  $\mu$  M rosiglitazone 的組別中，COX-2 蛋白量相較於感染組有明顯的下降 (63.9%,  $P < 0.05$ )，且上述結果在三重覆試驗皆相似 (圖三)。

### 四、Rosiglitazone 處理後 iNOS 蛋白質的表現

弓漿蟲感染星狀膠細胞在 rosiglitazone 處理後，藉由西方點墨法檢測細胞均質液中 130 kDa iNOS 蛋白量的變化。量化分析的結果顯示，相對於未感染組，感染組中 iNOS 蛋白質有顯著的增加。在 vehicle 和 10  $\mu$  M rosiglitazone 的組別中，iNOS 無明顯有意義的改變。而在 20  $\mu$  M rosiglitazone 的組別中，iNOS 蛋白量

相較於感染組有明顯的下降 (35.2%,  $P < 0.05$ )，且上述結果在三重覆試驗皆相似 (圖四)。

### 五、Rosiglitazone 處理後 MMP-2 和 MMP-9 蛋白質活性表現

弓漿蟲感染星狀膠細胞在 rosiglitazone 處理後，藉由 gelatin zymography 分析細胞均質液中 72 kDa MMP-2 和 92 kDa MMP-9 蛋白質活性表現。在弓漿蟲感染星狀膠細胞的組別之細胞均質液結果顯示，相較於未感染組 MMP-2 和 MMP-9 蛋白質活性可達到所有組別中的最大值。在 vehicle 和 10  $\mu$  M rosiglitazone 的組別中，MMP-2 和 MMP-9 蛋白質活性無有意義的改變。而在 20  $\mu$  M rosiglitazone 的組別中，MMP-2 和 MMP-9 蛋白質活性相較於感染組有明顯的下降 (57.8% 和 51.6%) ( $P < 0.05$ )，且上述結果在三重覆試驗皆相似 (圖五)。

### 六、GW9662 處理後 COX-2 蛋白質的表現

藉由西方點墨法分析弓漿蟲感染星狀膠細胞並在 GW9662 處理後，其細胞

均質液中 72 kDa COX-2 蛋白質的表現。細胞均質液量化分析的結果顯示，相對於未感染組，感染組中 COX-2 蛋白質有顯著的增加。在 vehicle 的組別中，COX-2 無明顯有意義的改變。而在 10  $\mu$ M rosiglitazone 和 20  $\mu$ M rosiglitazone 的組別中，COX-2 蛋白質量相較於感染組有明顯的上升（80.9 % 和 112.7 %）（ $P < 0.05$ ），且上述結果在三重覆試驗皆相似（圖六）。

七、GW9662 處理後 iNOS 蛋白質的表現  
弓漿蟲感染星狀膠細胞在 GW9662 處理後，藉由西方點墨法檢測 130 kDa iNOS 在細胞均質液中蛋白質的變化。量化分析的結果顯示，相對於未感染組，感染組中 iNOS 蛋白質有顯著的增加。在 vehicle 的組別中，iNOS 無明顯有意義的改變。而在 10  $\mu$ M rosiglitazone 和 20  $\mu$ M rosiglitazone 的組別中，iNOS 蛋白質量相較於感染組有明顯的上升（84.4 % 和 122 %）（ $P < 0.05$ ），且上述結果在三重覆試驗皆相似（圖七）。

八、GW9662 處理後 MMP-2 和 MMP-9 蛋白質活性表現

弓漿蟲感染星狀膠細胞在 GW9662 處理後，藉由 gelatin zymography 分析細胞均質液中 72 kDa MMP-2 和 92kDa MMP-9 蛋白質活性表現。在弓漿蟲感染星狀膠細胞的組別之細胞均質液結果顯示，相對於未感染組 MMP-2 和 MMP-9 蛋白質活性可達到所有組別中的最大值。在 vehicle 的組別中，MMP-2 和 MMP-9 蛋白質活性無有意義的改變。MMP-2 和 MMP-9 在 10  $\mu$ M rosiglitazone 的組別中，其蛋白質活性相較於感染組有稍微的上升（24.3 % 和 36.8 %）（ $P < 0.05$ ）。而在 20  $\mu$ M rosiglitazone 的組別中，MMP-2 和 MMP-9 蛋白質活性相較於感染組有明顯的上升（83.7 % 和 75.4 %）（ $P < 0.05$ ），且上述結果在三重覆試驗皆相似（圖八）。

## 討論

PPAR  $\gamma$  的活化可以降低活化態的星狀細胞之促發炎細胞激素和神經毒素物質（例如：nitric oxide, NO）（Storer et al., 2005; Xu and Drew,

2007)。PPAR  $\gamma$  的活化也可因為抑制了 AP-1、NF- $\kappa$ B 和 STAT 而促使 MMP-9 的表現下降 (Ricote et al., 1998)。我們的先前研究已經證實，在弓漿蟲感染星狀膠細胞會誘發 MMP-2、MMP-9 和 NF- $\kappa$ B 的產生，且 NF- $\kappa$ B 會和 MMP-9 的啟動子 (promoter) 有特殊的交互作用 (Lu and Lai, 2012; Lu and Lai, 2013)。本研究顯示，MMP-2、MMP-9 和 NF- $\kappa$ B 的表現會受到 PPAR  $\gamma$  拮抗劑 GW9662 的作用而顯著的增加，相反的，它們的表現反而會因為活化劑 rosiglitazone 的處理而有效的降低。因此，我們建議 PPAR  $\gamma$  可能參與調節 NF- $\kappa$ B 的表現，進而影響到 MMP-2 和 MMP-9 的表現。

COX-2 能夠參與人類免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus) 感染所造成的神經病理機轉 (Pereira et al., 2000) 或弓漿蟲感染的過程 (Kim et al., 2006)。在本研究結果中，COX-2 的表現會因各別受到 PPAR  $\gamma$  拮抗劑 GW9662 和活化劑 rosiglitazone 的作用而有顯著的增加和有效的降低。雖然在我們的研究中，我們並沒有檢測

(prostaglandin E-2, PGE-2)，然而在杜氏利什曼原蟲 (*Leishmania donovani*) (Matte et al., 2001) 或弓漿蟲 (Kim et al., 2006) 感染巨噬細胞 (macrophages) 的過程中，COX-2 能夠媒介 PGE-2 的產生，另有研究證實 PGE-2 具有媒介白血球轉移的能力 (Srinivasan and Kulkarni, 1980; Tajima et al., 2008)。因此，我們建議 PPAR  $\gamma$  可能參與調節 NF- $\kappa$ B 的表現，進而影響到 COX-2 的表現，而在感染過程中被誘發的 COX-2 能夠媒介 PGE-2 的產生，且此 PGE-2 能夠媒介白血球轉移到弓漿蟲感染的位置。

宿主對抗弓漿蟲持續性感染的過程中，iNOS 的產生對於宿主而言是必須的 (Scharton-Kersten et al., 1997)。在腦的皮質中，iNOS 的表現會受到 NF- $\kappa$ B 所調節 (Madrigal et al., 2001)，且 iNOS 的表現會因為 PPAR  $\gamma$  活化而下降 (Ricote et al., 1998)。PPAR  $\gamma$  活化劑已經證實不管在體內 (Heneka et al., 2000) 或體外 (Hovsepian et al., 2011) 皆可以讓 NO 的表現下降。本研究的結果顯示，

iNOS 會因各別受到 PPAR  $\gamma$  拮抗劑 GW9662 和活化劑 rosiglitazone 的作用而有顯著的增加和有效的降低。另外，NO 在星狀細胞中會參與抑制寄生蟲複製的功能 (Peterson et al., 1995)。綜合上述原因，我們建議 PPAR  $\gamma$  可能參與調節 NF- $\kappa$ B 的表現，進而影響到 iNOS 的表現，更進一步，被誘發的 iNOS 則可以媒介大量的 NO 形成並釋放大量的 NO，進而在弓漿蟲感染星狀膠細胞的過程中，NO 可以扮演抑制寄生蟲的複製或殺死寄生蟲的角色。

PPAR  $\gamma$  的活化劑在 CNS 疾病中可以提供保護，如阿茲海默症 (Alzheimer's disease) (Heneka et al., 2001; Landreth and Heneka, 2001)、帕金森氏症 (Parkinson's disease) (Bredert et al., 2002)、實驗性自體免疫性腦脊髓炎 (experiment autoimmune encephalomyelitis) (Feinstein et al., 2002)。此外，Sayan-Ozacmak (2011) 的研究指出 PPAR  $\gamma$  的活化劑 rosiglitazone 是非常有希望成為防止或治療腦血管疾病的藥物 (Sayan-Ozacmak et al., 2011)。

而本篇研究結果顯示，PPAR  $\gamma$  的活化劑可以降低 MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 的表現。綜合以上論述，我們建議 rosiglitazone 在星狀膠細胞被弓漿蟲感染的過程中可以提供保護作用。另外，依據我們先前的研究 (Lu and Lai, 2012; Lu and Lai, 2013) 和本篇的結果，我們假設了一個可能的機轉 (圖九)，當弓漿蟲感染星狀膠細胞時，會誘發細胞內的 NF- $\kappa$ B 活化，隨後啟動 MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 的轉錄，且隨後轉譯成蛋白質，此外，NF- $\kappa$ B 的表現可以受到 PPAR  $\gamma$  拮抗劑和活化劑的調節進而影響到促發炎酵素的表現。

總之，本研究是第一篇證實 PPAR  $\gamma$  在弓漿蟲感染星狀膠細胞過程中可以調節 NF- $\kappa$ B 的表現，進而影響到 MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 的表現。再者，在弓漿蟲誘發腦炎的過程中 rosiglitazone 或許可以提供另一種控制發炎過程的保護作用。除此之外，未來我們需要更多的體內研究來證實本研究的機轉。

## 參考文獻



- Benesová, Y., Vasku, A., Novotná, H., Litzman, J., Stourac, P., Beránek, M., Kadanka, Z. and Bednarík, J. 2009. Matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase -2 as biomarkers of various courses in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis : Clinical and Laboratory Research* .15:316-322.
- Breidert, T., Callebert, J., Heneka, M. T., Landreth, G., Launay, J. M., and Hirsch, E. C. 2002. Protective action of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist pioglitazone in a mouse model of Parkinson's disease. *J Neurochem* 82, 615-624
- Chen KM, Lee HH, Lu KH, Tseng YK, Hsu LS, Chou HL, et al. 2004. Association of matrix metalloproteinase-9 and Purkinje cell degeneration in mouse cerebellum caused by *Angiostrongylus cantonensis*. *Int J Parasitol.* 34:1147-56.
- Daubener, W., Pilz, K., Seghrouchni Zennati, S., Bilzer, T., Fischer, H.G., Hadding, U. 1993. Induction of toxoplasmosis in a human glioblastoma by interferon gamma. *J Neuro.* 43:31-38.
- Desvergne B and Wahli W. 1999. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev.* 20: 649-688.
- Feinstein, D. L., Galea, E., Gavriilyuk, V., Brosnan, C. F., Whitacre, C. C., Dumitrescu-Ozimek, L., Landreth, G. E., Pershadsingh, H. A., Weinberg, G., and Heneka, M. T. 2002. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists prevent experimental autoimmune encephalomyelitis. *Ann Neurol.* 51: 694-702
- Hovsepian E, Mirkin GA, Penas F, Manzano A, Bartrons R, Goren NB. *Int J Parasitol.* 2011. Modulation of inflammatory response and parasitism by 15-Deoxy- $\Delta$ (12,14) prostaglandin J(2) in *Trypanosoma cruzi*-infected cardiomyocytes. *Int J Parasitol.* 41:553-62.
- Hunter, C. A., Roberts, C. W., Alexander, J. 1992. Kinetics of cytokine mRNA production in the brains of mice with progressive toxoplasmic encephalitis.

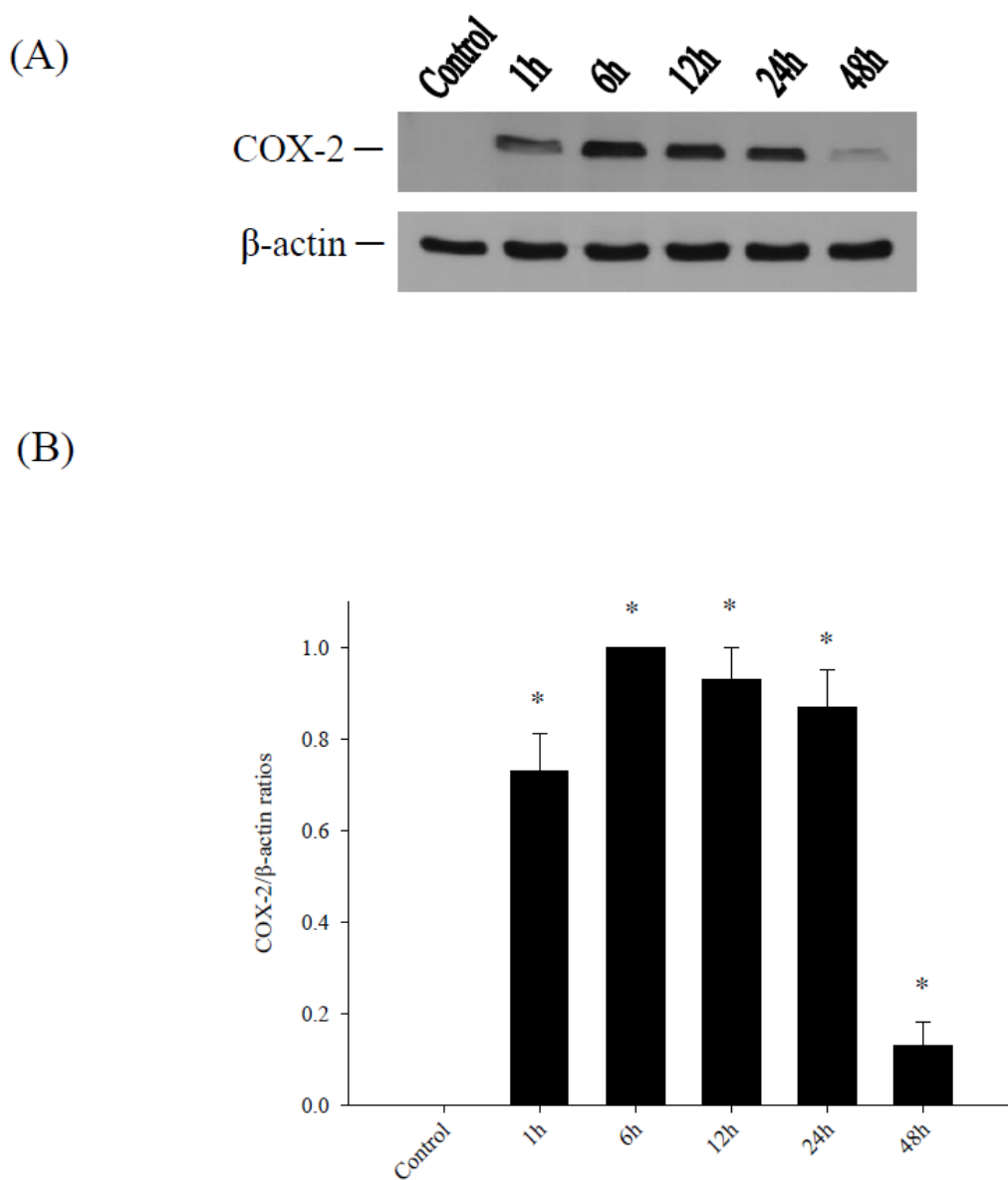
- Eur J Immunol. 22:2317-2322.
- Hunter, C.A., Roberts, C.W., Murray, M., Alexander, J. 1992. Detection of cytokine mRNA in the brains of mice with toxoplasmic encephalitis. *Parasite Immunol.* 14:405-413.
- Kim JY, Ahn MH, Song HO, Choi JH, Ryu JS, Min DY, Cho MH. 2006. Involvement of MAPK activation in chemokine or COX-2 productions by *Toxoplasma gondii*. *Korean J Parasitol.* 44:197-207
- Landreth, G. E., and Heneka, M. T. 2001. Anti-inflammatory actions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 22, 937-944
- Lu, CY and Lai, SC, 2012. Matrix metalloproteinase-2 and -9 lead to fibronectin degradation in astroglia infected with *Toxoplasma gondii*.
- Lu, CY and Lai, SC, 2013. Induction of MMP-2 and -9 via Erk1/2-NF- $\kappa$ B pathway in human astroglia infected with *Toxoplasma gondii*. Madrigal JL, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, Castrillo A, Boscá L, Leza JC. 2001. Inducible nitric oxide synthase expression in brain cortex after acute restraint stress is regulated by nuclear factor kappaB-mediated mechanisms. *Journal of Neurochemistry.* 76: 532-538.
- Matte C, Maion G, Mourad W, Olivier M. 2001. Leishmania donovani-induced macrophages cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 synthesis. *Parasite Immunol* 23:177-184.
- Pereira CF, Boven LA, Middel J, Verhoef J, Nottet HS. 2000. Induction of cyclooxygenase-2 expression during HIV-1-infected monocyte-derived macrophage and human brain microvascular endothelial cell interactions. *J Leukoc Biol.* 68:423-8.
- Peterson, P.K., Gekker, G, Hu, S., Chao, C.C., 1995. Human astrocytes inhibit intracellular multiplication of *Toxoplasma gondii* by a nitric oxide-mediated mechanism. *J Infect Dis.* 171: 516-518.
- Ricote, M., Li, A. C., Willson, T. M., Kelly, C. J., & Glass, C. K. 1998. The

- peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature*. 391:79-82.
- Sabin, A.B., Olitsky, P.K., 1937. *Toxoplasma* and obligate intracellular parasitism. *Science*. 85:336-338.
- Sayan-Ozacmak H, Ozacmak VH, Barut F, Jakubowska-Dogru E. 2011. Neuroprotective efficacy of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  ligand in chronic cerebral hypoperfusion. *Curr Neurovasc Res*. 8:190-9.
- Scharton-Kersten, T.M., Yap, G., Magram, J., Sher, A., 1997. Inducible nitric oxide is essential for host control of persistent but not acute infection with the intracellular pathogen *Toxoplasma gondii*. *J Exp Med*. 185:1261-1273.
- Shih YW, Chien ST, Chen PS, Lee JH, Wu SH, Yin LT. 2010. Alpha-mangostin suppresses phorbol 12-myristate 13-acetate-induced MMP-2/MMP-9 expressions via  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin/FAK/ERK and NF- $\kappa$ B signaling pathway in human lung adenocarcinoma A549 cells. *Cell Biochem Biophys*. 58:31-44.
- Srinivasan B.D. and Kulkarni P.S. 1980. The role of arachidonic acid metabolites in the mediation of the polymorphonuclear leukocyte response following corneal injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 19:1087-93.
- Storer PD, Xu J, Chavis J, Drew PD. 2005. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists inhibit the activation of microglia and astrocytes: implications for multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 161:113-22.
- Taubert A, Zahner H, Hermosilla C. 2006. Dynamics of transcription of immunomodulatory genes in endothelial cells infected with different coccidian parasites. *Veterinary Parasitology*. 142:214-222.
- Tajima T, Murata T, Aritake K, Urade Y, Hirai H, Nakamura M, Ozaki H, Hori M. 2008. Lipopolysaccharide induces macrophage migration via prostaglandin D(2) and prostaglandin E(2). *J*

Pharmacol Exp Ther. 326:493-501.  
Wilson, E.H., Hunter, C.A., 2004. The role  
of astrocytes in the immunopathogenesis

of toxoplasmic encephalitis. Int J  
Parasitol. 34:543-548.

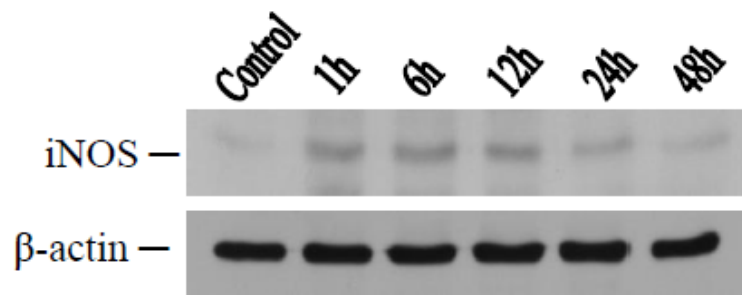
## 圖、表



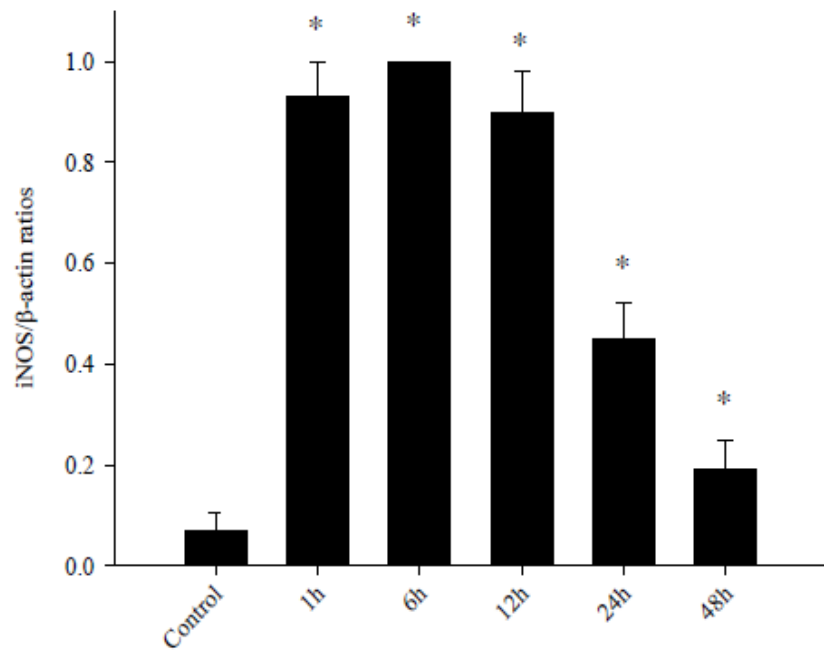
圖一、環氧化酶 (cyclooxygenases) -2 在弓漿蟲感染星狀膠細胞時的蛋白質表現。(A) 在細胞均質液中,COX-2 在感染後第 1 小時到第 24 小時相較於未感染組有明顯的增加。

(B) COX-2 蛋白量化結果是利用電腦軟體 (computer-assisted imaging densitometer system) 進行量化分析。數據以平均值 標準差表現,\* $P < 0.05$  表示有顯著差異。 $\beta$ -actin 為 loading control。

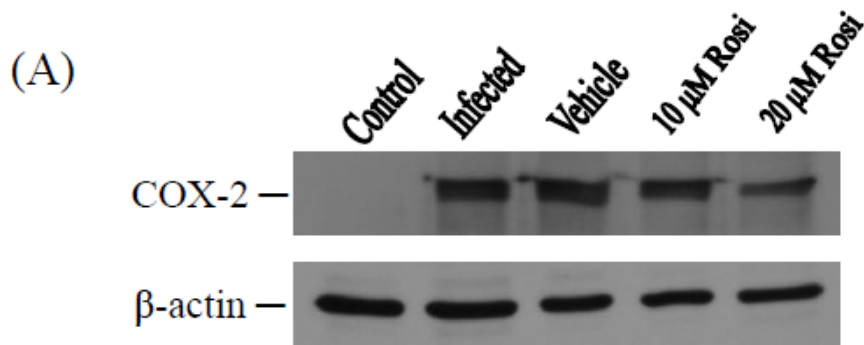
(A)



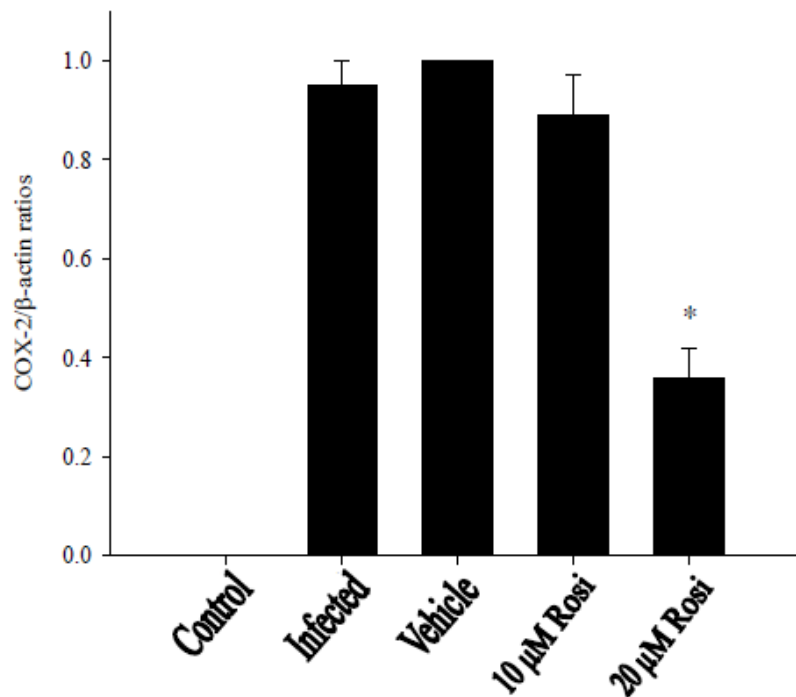
(B)



圖二、誘發型一氧化氮合成酶 (inducible nitric-oxide synthases, iNOS) 在弓漿蟲感染星狀膠細胞時的蛋白質表現。(A) 在細胞均質液中, iNOS 在感染後第 1 小時到第 24 小時相較於未感染組有明顯的增加。(B) iNOS 蛋白量化結果是利用電腦軟體 (computer-assisted imaging densitometer system) 進行量化分析。數據以平均值 標準差表現, \* $P < 0.05$  表示有顯著差異。  $\beta$ -actin 為 loading control。

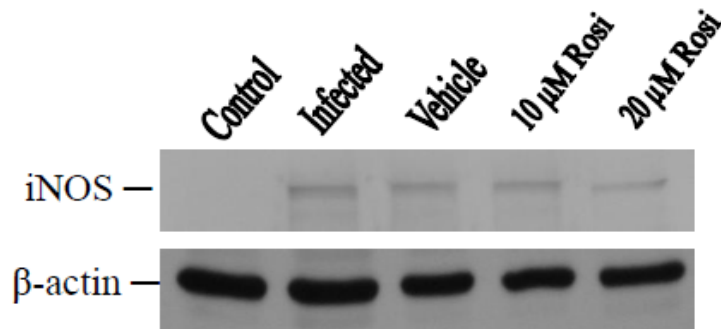


(B)

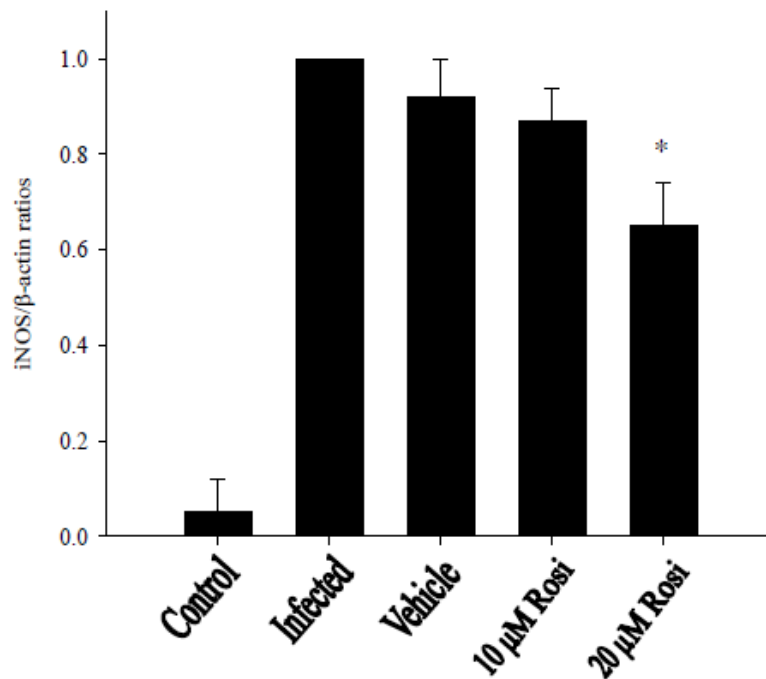


圖三、Rosiglitazone 對環氧化酶 (cyclooxygenases) -2 在弓漿蟲感染星狀膠細胞時蛋白質表現的影響。(A) 試驗的組別分別為：未感染組 (Control)、感染弓漿蟲組 (Infected)、0.1 % DMSO 組 (Vehicle)、10  $\mu$ M rosiglitazone 處理組 (10  $\mu$ M Rosi) 和 20  $\mu$ M rosiglitazone 處理組 (20  $\mu$ M Rosi)。  $\beta$ -actin 為 loading control。(B) COX-2 蛋白量化結果是利用電腦軟體 (computer-assisted imaging densitometer system) 進行量化分析。數據以平均值 標準差表現，\* $P < 0.05$  表示有顯著差異。

(A)

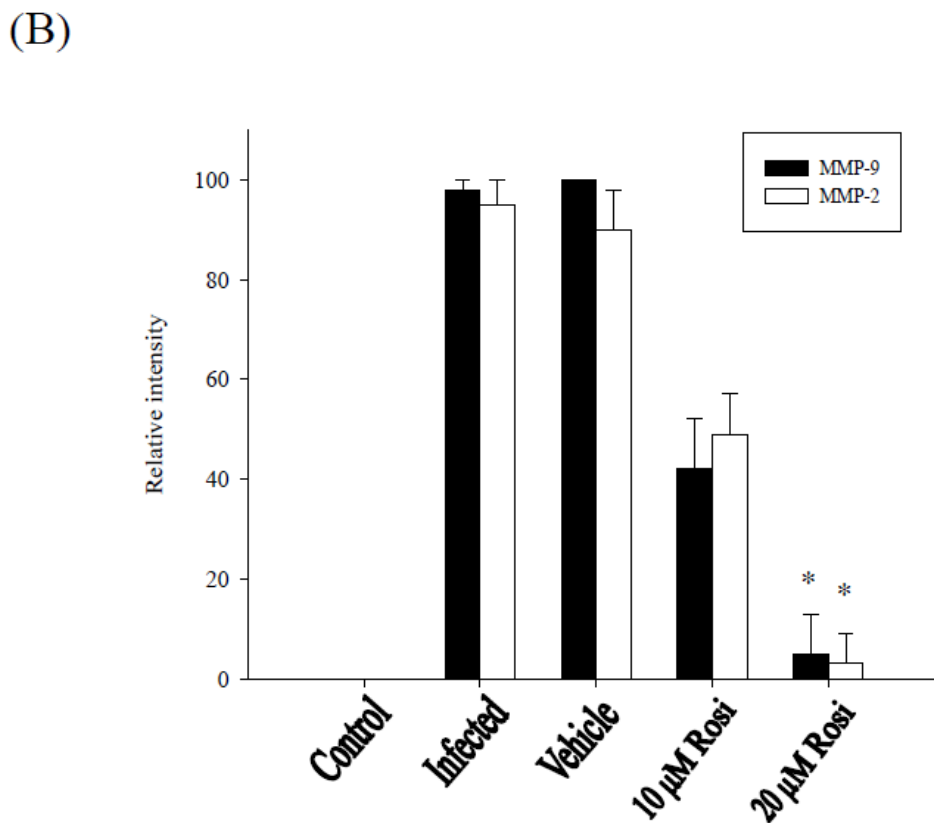
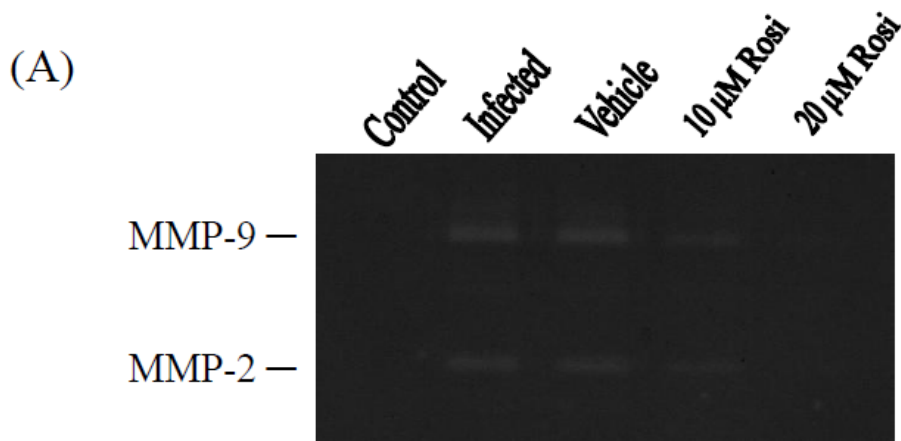


(B)



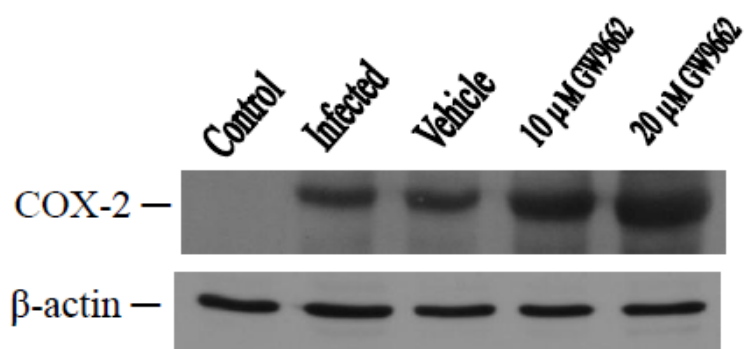
圖四、Rosiglitazone 對誘發型一氧化氮合成酶 (inducible nitric- oxide synthases, iNOS) 在弓漿蟲感染星狀膠細胞時蛋白質表現的影響。(A) 試驗的組別分別為：未感染組 (Control)、感染弓漿蟲組 (Infected)、0.1 % DMSO 組 (Vehicle)、10  $\mu$  M rosiglitazone 處理組 (10  $\mu$  M Rosi) 和 20  $\mu$  M rosiglitazone 處理組 (20  $\mu$  M Rosi)。  $\beta$ -actin 為 loading control。(B) iNOS 蛋白量化結果是利用電腦軟體 (computer-assisted imaging densitometer system) 進行量化分析。數據以平均值 標準差表現，\* $P < 0.05$  表示有顯著差異。



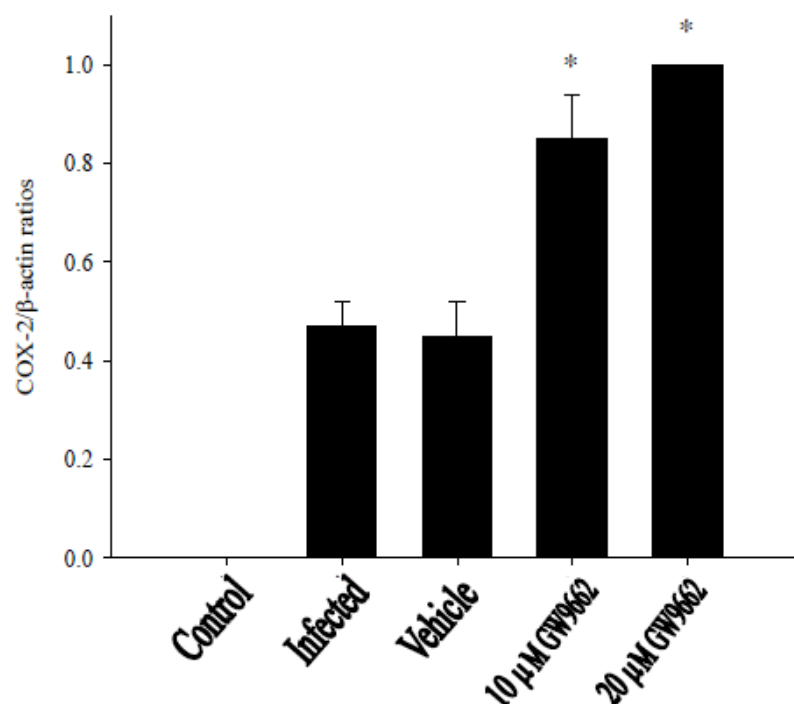


圖五、Rosiglitazone 對 (matrix metalloproteinases) -2 和 MMP-9 蛋白質活性表現在弓漿蟲感染星狀膠細胞時蛋白質表現的影響。(A) 在細胞均質液中可檢測到 72 kDa MMP-2 和 92kDa MMP-9 之活性。試驗的組別分別為：未感染組 (Control)、感染弓漿蟲組 (Infected)、0.1 % DMSO 組 (Vehicle)、10  $\mu$  M rosiglitazone 處理組 (10  $\mu$  M Rosi) 和 20  $\mu$  M rosiglitazone 處理組 (20  $\mu$  M Rosi)。(B) 72 kDa 和 92kDa 在細胞均質液中活性量化結果是利用電腦軟體 (computer-assisted imaging densitometer system) 進行量化分析。數據以平均值 標準差表現，\* $P < 0.05$  表示有顯著差異。

(A)

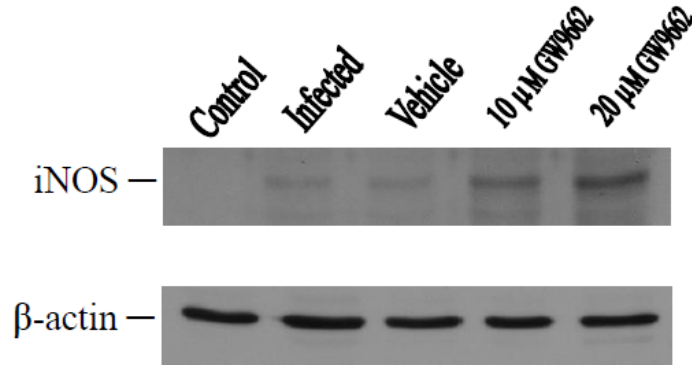


(B)

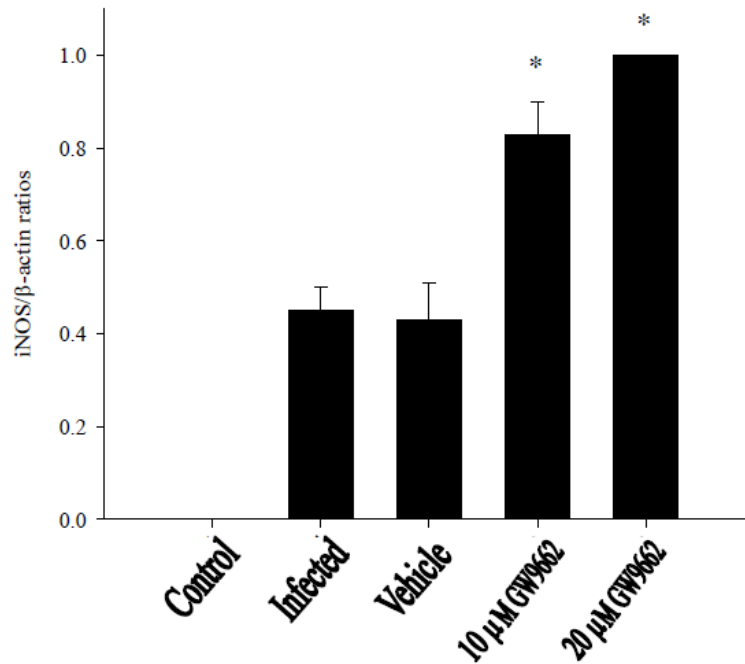


圖六、GW9662 對環氧化酶 (cyclooxygenases) -2 在弓漿蟲感染星狀膠細胞時蛋白質表現的影響。(A) 試驗的組別分別為：未感染組 (Control)、感染弓漿蟲組 (Infected)、0.1 % DMSO 組 (Vehicle)、10  $\mu$ M GW9662 處理組 (10  $\mu$ M GW9662) 和 20  $\mu$ M GW9662 處理組 (20  $\mu$ M GW9662)。  $\beta$ -actin 為 loading control。(B) COX-2 蛋白質量化結果是利用電腦軟體 (computer-assisted imaging densitometer system) 進行量化分析。數據以平均值 標準差表現，\*P < 0.05 表示有顯著差異。

(A)

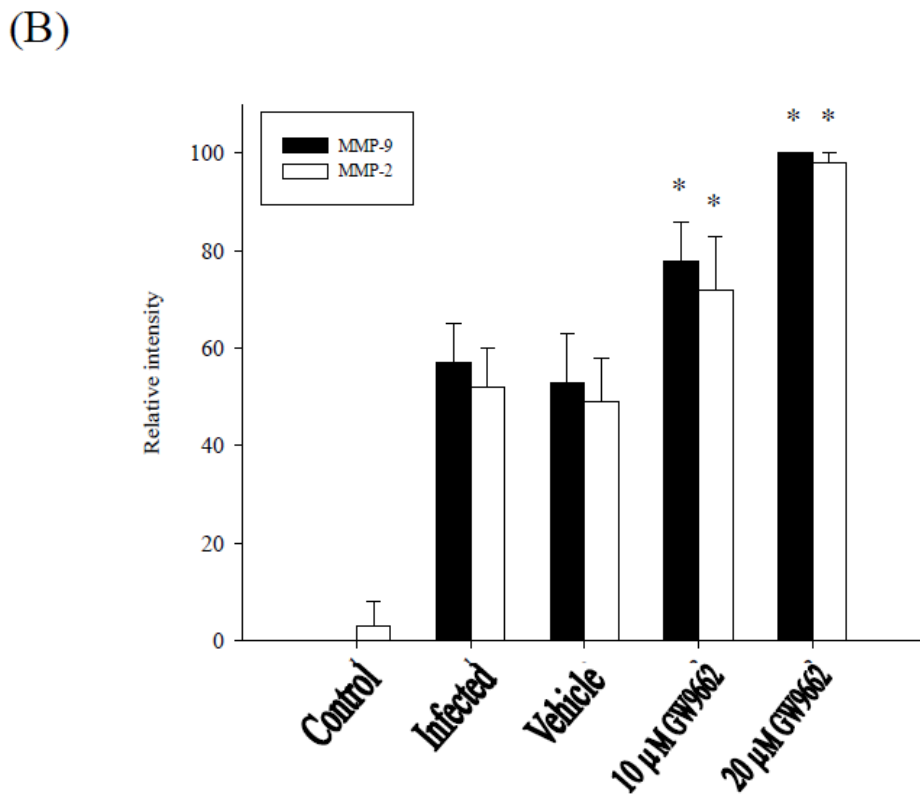
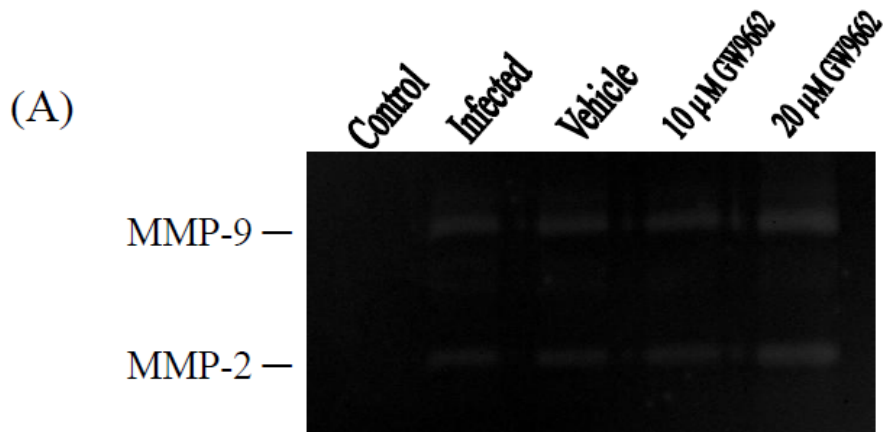


(B)

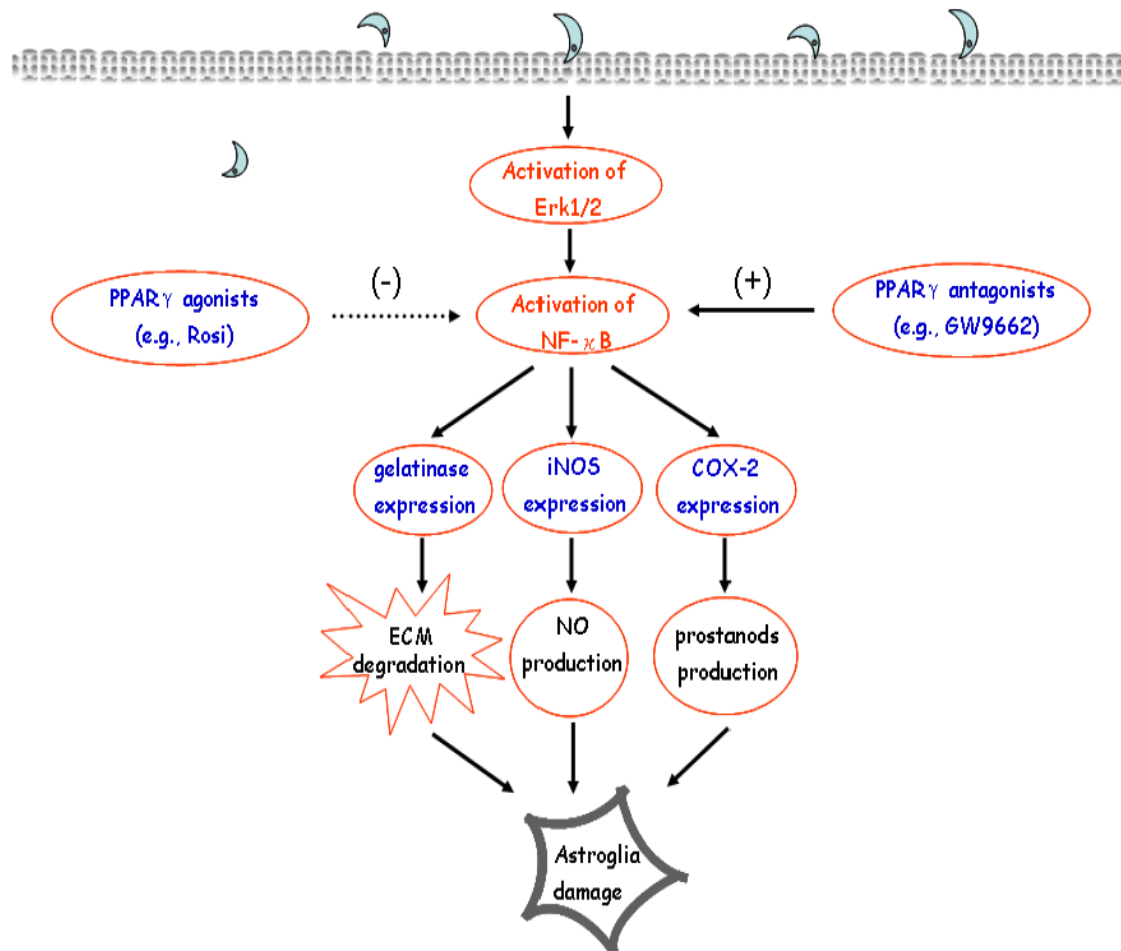


圖七、GW9662 對誘發型一氧化氮合成酶 (inducible nitric- oxide synthases, iNOS) 在弓漿蟲感染星狀膠細胞時蛋白質表現的影響。(A) 試驗的組別分別為：未感染組 (Control)、感染弓漿蟲組 (Infected)、0.1 % DMSO 組 (Vehicle)、10  $\mu$ M GW9662 處理組 (10  $\mu$ M GW9662) 和 20  $\mu$ M GW9662 處理組 (20  $\mu$ M GW9662)。  $\beta$ -actin 為 loading control。

(B) iNOS 蛋白量化結果是利用電腦軟體 (computer-assisted imaging densitometer system) 進行量化分析。數據以平均值 標準差表現，\*P < 0.05 表示有顯著差異。



圖八、GW9662 對 (matrix metalloproteinases) -2 和 MMP-9 蛋白質活性表現在弓漿蟲感染星狀膠細胞時蛋白質表現的影響。(A) 在細胞均質液中可檢測到 72 kDa MMP-2 和 92kDa MMP-9 之活性。試驗的組別分別為：未感染組 (Control)、感染弓漿蟲組 (Infected)、0.1 % DMSO 組 (Vehicle)、10  $\mu$  M GW9662 處理組 (10  $\mu$  M GW9662) 和 20  $\mu$  M GW9662 處理組 (20  $\mu$  M GW9662)。(B) 72 kDa 和 92kDa 在細胞均質液中活性量化結果是利用電腦軟體 (computer-assisted imaging densitometer system) 進行量化分析。數據以平均值 標準差表現，\*P<0.05 表示有顯著差異。



圖九、環氧化酶 (cyclooxygenases) -2、誘發型一氧化氮合成酶 (inducible nitric- oxide synthases, iNOS)、核轉錄因子-kappa B (nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$  B) 和 (matrix metalloproteinases) -2 與 MMP-9 在弓漿蟲感染星狀膠細胞 (astroglia) 時被過氧化酶體增殖因子活化受體 gamma (peroxisome proliferators-activated receptors, PPAR  $\gamma$ ) 調節之可能機轉。當弓漿蟲感染星狀膠細胞時，會誘發胞內的 Erk1/2 磷酸化並使得胞內的 NF- $\kappa$  B 活化，隨後活化的 NF- $\kappa$  B 會轉移到核內並連結至 iNOS、COX-2、MMP-2 和 MMP-9 的 DNA binding site，接著轉錄並轉譯成蛋白質，隨後這些蛋白酶會被分泌到細胞外。更進一步，PPAR  $\gamma$  活化劑 (agonist) 與拮抗劑 (antagonist) 有效的調節 NF- $\kappa$  B，進而影響到 iNOS、COX-2、MMP-2 和 MMP-9 的表現。

## 計劃成果自評

- 一、 研究內容與原計畫相符程度達 85%
- 二、 達成預期目標情況：PPAR  $\gamma$  在弓漿蟲感染星狀膠細胞過程中可以調節 NF- $\kappa$ B 的表現，進而影響到 MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 的表現。
- 三、 研究成果之學術或應用價值：找出弓漿蟲感染時導致腦炎之致病機轉，由此模式提供臨床上診斷此症之參考。
- 四、 適合在學術期刊發表
- 五、 主要發現：在弓漿蟲誘發腦炎的過程中 rosiglitazone 或許可以提供另一種保護作用。

# 國科會補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2012/10/02

國科會補助計畫	計畫名稱: 伽瑪型過氧化脢體增殖劑活化受體在調節弓蟲性腦炎之機轉
	計畫主持人: 賴世展
	計畫編號: 100-2320-B-040-008- 學門領域: 寄生蟲學、醫事技術及實驗診斷
無研發成果推廣資料	

100 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：賴世展		計畫編號：100-2320-B-040-008-					
計畫名稱：伽瑪型過氧化脢體增殖劑活化受體在調節弓蟲性腦炎之機轉							
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%		
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（本國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		
國外	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%	章/本	
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（外國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		



<p>其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p>無</p>
--	----------

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

# 國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表  未發表之文稿  撰寫中  無

專利： 已獲得  申請中  無

技轉： 已技轉  洽談中  無

其他：（以 100 字為限）

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

本計畫達成預期目標：PPAR  $\gamma$  在弓漿蟲感染星狀膠細胞過程中可以調節 NF- $\kappa$ B 的表現，進而影響到 MMP-2、MMP-9、COX-2 和 iNOS 的表現。本研究結果證實弓漿蟲感染時導致腦炎之致病機轉，由此模式提供臨床上診斷此症之參考。