

[illegible]

執行期間：88 年 08 月 01 日至 89 年 07 月 31 日

共同主持人：黃天祥、江伯倫

中 華 民 國 89 年 10 月 30 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號：NSC 89-2320-B-002-058

執行期限：88 年 08 月 01 日至 89 年 07 月 31 日

主 持 人：王 顏 和 台大醫學院 復健科

共同主持人：黃天祥 台大醫學院 內科

江伯倫 台灣大學 醫學臨床研究所

一、中文摘要

脊髓損傷除了影響神經功能外，也可造成各種內分泌之變化，包括周邊內分泌器官及下視丘—腦垂體軸之變化。近幾年來，本實驗室研究的證據支持我們提出的看法，也就是說，中樞神經系統損傷會影響內分泌的功能。

感染是脊髓損傷發病率與死亡率之主要原因，病人常因反覆感染而經常住院，然而免疫系統的角色卻很少有人加以探討。最近的研究結果顯示免疫功能會受到如神經及內分泌系統的影響，如果荷爾蒙的分泌過高或過低，都會導致免疫功能的失調，甚至會造成嚴重的感染。我們先前的研究已經顯示脊髓損傷的患者會造成內分泌的失調，可能也會造成免疫方面的問題。脊髓損傷病患之免疫系統，與其他神經疾病患者一樣，很少受到重視；其中癱瘓本身及感染對於免疫系統之相互關係所知甚為有限。

本研究目的在於試圖瞭解脊髓損傷患者之免疫功能失常情形。我們將對四十位外傷性完全性脊髓損傷男性患者進行免疫功能研究。患者受傷已逾壹年且病情穩定，並未服用足以影響免疫系統之藥物，而在檢查期間沒有明顯感染問題，除了脊髓損傷本身以外，沒有其他明顯壓力或憂鬱問題。我們主要是進行細胞性免疫反應之測試，除血液像及血液生化檢查外，利用肝素抗凝之周邊血液進行實驗。先分離出單核細胞，並以 T 細胞及 B 細胞裂殖素加以刺激，並觀察其增殖反應。利用抗體來對淋巴球進行染色分析。中性白血球在受裂殖素刺激後，研究其氧化能力。並將單核球利用 LPS 刺激來分析其細胞激素。

結果發現部份脊髓損傷患者對裂殖

素的反應較差，而在淋巴細胞的表面標記、中性白血球的吞噬和氧化能力上，脊髓損傷患者與正常人似乎沒有太大差別。

脊髓損傷病人因感染造成死亡的比率高於正常人甚多，免疫功能異常應負部份責任，我們的初步研究對臨床上照顧這類病患必有貢獻。

關鍵詞：細胞性免疫反應、神經內分泌、脊髓損傷

Abstract

Spinal cord injuries (SCI) can cause various hormonal changes. The pathomechanisms include peripheral endocrine organ dysfunction and central regulatory disorders. In recent years, our laboratories have noted the following evidences to support our hypothesis. It means that the impairment of central nervous system will affect the immune function.

Infection is a major cause of mobility and mortality after SCI. The patient may be hospitalized repeatedly with the recurring infection. The immune system of the SCI individuals has been the focus of little investigation. Accumulated evidence in recent studies showed that there are complex and extensive interactions among the central nervous system, the immune system and the neuroendocrine system. Our previous studies showed that injury to the spinal cord would result in hormone changes. Immunological function might also be effected. The immune system of spinal persons, as well as individuals with other neurologic diseases, have received limited attention, and the extent to which their infections and illnesses are attributable to immune dysfunction remains unknown.

The purposes of this study are to survey the immune dysfunction in SCI patients. Forty traumatic complete SCI males will be investigated for immune function. The subjects are recruited after meeting the following criteria: the period of injury over one year in medical stable condition, no taking medications known to affect immune function, no active infection, without sign of stress or depression except SCI itself. Besides the complete blood count and blood chemistry examinations, the cell-mediated immunity will be studied with the heparinized peripheral blood. After mononuclear cells separated by centrifugation, they are stimulated by T cell and B cell phytoagglutinin, then proliferation reaction are investigated. FACS analysis will be done on lymphocyte by specific antibodies. Oxidation ability of neutrophils will be studied with mitogen and cytokine of monocyte will be analyzed by LPS stimulation.

The results showed poor response to mitogen in some SCI patients and no significant difference was found between SCI and normal subjects in surface marker of lymphocytes and phagocytosis and oxidative ability in neutrophils.

Since the mortality rate of infection of SCI is far beyond that of normal subjects, the immune dysfunction may have some contribution. Our preliminary research will be some improvements in the care of SCI subjects.

Keywords: cell-mediated immunity, neuroendocrinology, spinal cord injury

二、緣由與目的

脊髓損傷除了影響運動及感覺神經外，可造成多種內分泌功能之變化(1-4)，本實驗室近幾年來即針對脊髓損傷病人之內分泌變化加以探討(5)，使我們對脊髓損傷患者內分泌系統有相當的認識及研究成果(6-11)。

免疫系統是人體用來預防入侵之微生物，抗體及免疫細胞便可以發揮其功能，一旦這些功能受到破壞或是能力不足，便容易導致感染。動物實驗顯示前下視丘損傷會發生淋巴球對裂殖素(mitogen)

反應之壓制作用(12)。下視丘可透過下視丘—腦垂體軸或經由自主神經系統直接支配來與周邊系統溝通。其中自主神經系統是一重要機制，因已有證據顯示切除腎上腺或下視丘之老鼠，壓力會影響免疫反應(13,14)。更進一步聯結中樞神經系統與免疫系統的證據是壓力與憂鬱會改變細胞性免疫反應(15-17)。至於淋巴球表面已被證實具有乙型腎上腺髓素受器，並且對鄰苯二酚胺(catecholamine)刺激會有反應(18,19)。這些證據說明上述三系統之間的關聯性。脊髓損傷四肢癱瘓患者，可能因其所直接支配免疫組織失去控制，神經內分泌軸失常，久坐不動帶來的體能減退，暴露在免疫壓制因子、心理或非心理壓力因子等，使其免疫反應起了變化(20)。而變化幅度以受傷在交感神經輸出以上部位較為明顯，顯示此與自主神經功能異常有關，而運動對免疫則呈現有選擇性的反應。

感染與脊髓損傷之聯結很可能就是免疫系統，也就是說，脊髓損傷患者反覆感染，免疫系統失常可能是一重要原因。有研究認為，神經免疫交互作用是透過腦垂體—腎上腺軸，或是透過自主神經系統直接聯結腦脊髓與免疫系統(21)。高於交感神經輸出途徑之完全性脊髓損傷患者，其細胞性免疫會有所變化，這些變化因交感神經系統喪失更高控制中心而發生(22)。當免疫細胞在腹部淋巴組織循環時這個自主調節功能的喪失會透過腎上腺髓素受器影響單核細胞的功能。然而，任何免疫系統的變化也可單純是壓力或憂鬱的結果。

我們在脊髓損傷的患者也常觀察到細菌感染的情形增加，所以可能在這些患者一些自然免疫力如巨噬細胞、中性白血球的活性也會受到影響，而進一步導致細菌感染的機會增加(23)。所以在本計畫中我們也將研究中性白血球的活性在這些脊髓患者的變化，以瞭解這些脊髓損傷患者是否因為內分泌系統的失調而導致這些負責自然免疫力的細胞也跟著受到影響。

至今，關於脊髓損傷後免疫感應變化之研究甚少。完全性頸髓損傷病人之免疫功能在受傷後會起變化，此可能與自主神經系統之交感神經失調有關(22)。雖有人認

為 T 細胞與 B 細胞功能並不會明顯失常(23)。研究顯示在脊髓損傷的患者出現血清中 IL-2 受體下降的情形，由於 IL-2 受體是 T 細胞活化時非常重要的分子，如果濃度降低顯示在這些患者淋巴細胞的活化可能出現一些問題(24)。如果 T 細胞的活化出現問題，會連帶導致 B 細胞製造抗體的能力降低，同時也會使細胞性免疫力包括細胞毒殺性 T 細胞(CD8⁺ T 細胞)及自然殺手細胞(natural killer cells)的數目及活性都降低(24)。以前的研究已經證明在脊髓損傷患者的確會出現自然殺手細胞活性降低的情形，而細胞毒殺性 T 細胞及自然殺手細胞的活性降低，可能會導致患者對病毒感染的抵抗力下降。

本研究的目的是在於 1.瞭解脊髓損傷患者之免疫功能 2.瞭解患者的損傷特性與免疫功能變化的關係 3.瞭解內分泌失調對免疫力的影響 4.掌握脊髓損傷患者神經系統、內分泌系統與免疫系統之相互關係 5.對於脊髓損傷患者感染的預防與治療有更進一步的認識

研究對象：1.選擇四十位外傷性完全性脊髓損傷男性病患。2.排除呼吸道感染、尿路感染、壓瘡等患者。3.未服用類固醇、抗代謝藥物或抗癌藥物等。4.未罹患足以影響免疫系統之疾病。5.經由測試，除了脊髓損傷本身以外，沒有其他明顯壓力或憂鬱問題。6.對本研究充份瞭解並同意受測者。

研究方法：1.首先記錄患者一般性資料，並作血液像檢查、血液生化檢查等。2.利用 Ficoll-Hypaque 的離心方法將周邊血液單核細胞分離出。3.周邊血液單核細胞的刺激及增殖反應。4.單核細胞分離出來後將進行螢光流體計數儀染色分析(FACSscan analysis)。

三、結果與討論

本計畫主要的目的是研究脊髓損傷患者的免疫功能是否受到影響，而因為免疫功能的受影響而導致這些脊髓損傷患者較容易發生感染等情形。我們針對這些患者取得周邊血液單核細胞進行免疫功能的分析，其中包括細胞表面標記、吞噬能力和裂殖素(mitogen)刺激的細胞增生反應。結果如下：

(1)部份脊髓損傷患者對裂殖素的反應較差，在 40 位完成實驗的脊髓損傷患者中有 13 位對 T 細胞的裂殖素(PHA)反應不佳(S.I.值低於 10)；而對 T 細胞和 B 細胞都能夠刺激的 PWM 裂殖素，則有 12 位患者對其刺激的反應不好。其中，有 10 位患者是同時對兩種裂殖素的刺激不好(亦即 S.I.都低於 10)。

(2)在淋巴細胞的表面標記方面，脊髓損傷患者和正常人似乎沒有明顯的差別。

(3)中性白血球的吞噬和氧化能力方面，脊髓損傷患者和正常人也未觀察到明顯的差別。

綜合以上的結果顯示，部份脊髓損傷患者身上的淋巴細胞增殖能力似乎有較低的情形。目前對此一現象的真正機轉還不是非常清楚，未來也許應該針對淋巴細胞刺激後的細胞激素製造、其他抗原呈現細胞(antigen presenting cells)的輔助分子(accessory molecules)的表現量作進一步的研究。同時，如果能夠在同一病人身上追蹤其神經內分泌系統的功能和是否較容易導致感染等臨床指標作個統計及分析，將會讓我們對這些脊髓損傷患者的生理和免疫功能有更進一步的了解。

四、計畫成果自評

經過一年之努力，我們收集了四十位男性脊髓損傷病人進行本研究，確實觀察到患者對淋巴細胞增殖能力較常人為差，但其真正機轉仍待進一步探討，我們將持續此一領域之研究。

脊髓損傷是一重大殘障，不止神經功能障礙，也常遭受感染的困擾。我們多年來在脊髓損傷各方面的研究，尤其是內分泌系統方面，已有相當不錯的成績。現將我們原本研究的重點由神經內分泌系統延伸到免疫系統，相信在免疫系統的研究定能得到相當好的成績，以嘉惠於該類病人在防治上的進展。

至今世界各國對於脊髓損傷患者免疫功能之研究，既不多又不深入，我們若能及早開發此一領域之研究，不但可取得領先之地位，對於患者感染方面的防治也會有所貢獻。

五、參考文獻

01. Claus-Walker J, Halstead LS: Metabolic and endocrine changes in spinal cord injury. I. The nervous system before and after transection of the spinal cord. *Arch Phys Med Rehabil* 1981;62:595-601.
02. Nicholas JJ, Streeten DHP, Phil D, et al: A study of pituitary and adrenal function in patients with traumatic injuries of the spinal cord. *J Chronic Dis* 1969;22:463-73.
03. Kikuchi TA, Skowsky WR, El-Toraei I, et al: The pituitary-gonadal axis in spinal cord injury. *Fertil Steril* 1976;27:1142-5.
04. Hayes PJ, Krishnan KR, Diver MJ, et al: Testicular endocrine function in paraplegic men. *Clin Endocrinol* 1979;11:549-52.
05. Wang YH, Huang TS, Lien IN: Hormonal changes in men with spinal cord injuries. *Am J Phys Med Rehabil* 1992;71:328-32.
06. Cortes-Gallegos V, Castaneda G, Alonso R, et al: Pituitary-testis relationships in paraplegic men. *J Androl* 1981;2:326-30.
07. Young RJ, Strachan RK, Seth J, et al: Is testicular endocrine function abnormal in young men with spinal cord injuries. *Clin Endocrinol* 1982;17:303-6.
08. Huang TS, Wang YH, Chiang HS, et al: Pituitary-testicular and pituitary-thyroid axes in spinal cord injured males. *Metabolism* 1993;42:516-21.
09. Huang TS, Wang YH, Lien IN: Suppression of the hypothalamus-pituitary somatotrope axis in men with spinal cord injuries. *Metabolism* 1995;44:1116-20.
10. Huang TS, Wang YH, Lee SH, et al: Impaired hypothalamus-pituitary-adrenal axis in men with spinal cord injuries. *Am J Phys Med Rehabil* 1998;77(1):108-112.
11. Wang YH, Huang TS: Impaired adrenal reserve in men with spinal cord injury - result of low- and high-dose adrenocorticotropin stimulation tests. *Arch Phys Med Rehabil* 1999;80:863-6.
12. Keller SE, Stein M, Camerino MS, et al: Suppression of lymphocyte stimulation by anterior hypothalamic lesions in the guinea pig. *Cell Immunol* 1980;52:334-40.
13. Keller SE, Weiss JM, Miller NE, et al: Stress-induced suppression of immunity in adrenalectomized rats. *Science* 1983;221:1031-4.
14. Keller SE, Schleifer SJ, Liotta AS, et al: Stress-induced alterations of immunity in hypophysectomized rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:9297-301.
15. Schleifer SJ, Keller SE, Camerino M, et al: Suppression of lymphocyte stimulation following bereavement. *JAMA* 1983;250:374-7.
16. Schleifer SJ, Keller SE, Bond RN, et al: Major depressive disorder and immunity. *Arch Gen Psychiatry* 1989;46:81-7.
17. Glaser R, Kennedy S, Lafuse WP, et al: Psychological stress-induced modulation of interleukin 2 receptor gene expression and interleukin 2 production in peripheral blood leukocytes. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:707-12.
18. Cunnick JE, Lysle DT, Kucinski BJ, et al: Evidence that shock-induced immune suppression is mediated by adrenal hormones and peripheral beta-adrenergic receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 1990;36:645-51.
19. Whalen MM, Bankhurst AD: Effects of beta-adrenergic receptor activation: cholera toxin and forskolin on human natural killer cell function. *Biochem J* 1990;272:327-31.
20. Nash MS: Immune responses to nervous system decentralization and exercise in quadriplegia. *Med Sci Sports Exerc* 1994;26:164-71.
21. Dixon FJ, Maurer PH: Specificity of the secondary response to protein antigens. *J Immunol* 1955;74:418-21.
24. Fainstein J, Musher V: Bacterial adherence to pharyngeal cells in smokers, non-smokers and chronic bronchitis. *Infect Immun* 1979;28:178-82.
22. Campagnolo DI, Keller SE, DeLisa JA, et al: Alternation of immune system function in tetraplegia. *Am J Phys Med Rehabil* 1994;73:387-93.
23. Lyons M: Immune function in spinal cord-injured males. *J Neurosci Nurs* 1987;19:18-23.
27. Cruse KM, Lewis RE, Bishop GR, et al: Decreased immune reactivity and neuroendocrine alternations related to chronic stress in spinal cord and stroke patients. *Pathobiology* 1993;61:183-92.