

誌謝:

一謝 所有參與本研究之病患及對照組朋友，沒有你們的參與本研究無法完成。

二謝 中國醫藥學院附設醫院遺傳基因實驗室施怡如及許妤安小姐及台中榮民總院腎臟科實驗室之洪佳芳、鄭德貞、李聖慧及吳心潔小姐在實驗室上給予之協助。

三謝 台中榮總醫院腎臟科徐國雄主任、鄭志雄醫師、吳明儒醫師、中山醫學院腎臟科連榮達主任幫助病患資料之收集。

四謝 台中榮總醫院醫學研究部何惠卿小姐、中國醫藥學院中醫學測量小組李采娟副教授之統計協助。

五謝 蔡輔仁教授在實驗上諸多協助及殷切指導論文。

最後更感激我的父、母、內人奕君和三位幼子冠文、怡文及冠宇在這段時間精神之鼓勵支持，使我無後顧之憂。

中文摘要

背景：原發性膜性腎病變是一常見且複雜多重因子的疾病，是成人腎病症候群最常見的原因。它包含了基因、免疫及環境因素，影響其好發性及嚴重程度，佔所有原發性腎絲球炎造成之末期腎病變的第二或第三位常見原因。在過去之 30 年此病預後似乎未有多大變化，其中 30% 會在五年內自發性完全痊癒，但也有 25% 之病患會在八年內進行到末期腎病變。雖然我們努力的研究探討發病原因及更新治療方式，並使用更好的降血壓藥來降低血壓，但卻未能改善病患之預後。目前膜性腎病變基因之研究侷限在 HLA 之相關性研究，其它之基因相關性研究目前尚屬缺無，故本研究將就膜性腎病變之相關性研究基因相關性。

免疫反應失調是造成腎臟疾病的主要原因，特別是腎絲球炎。腎絲球在機能上是動脈血管所構成的過濾網，微血管上的內皮細胞使微血管有一個個的小洞，膜性腎病變是一種免疫複合物在腎絲球上沉著。免疫複合體進而活化補體系統，產生白血球趨化作用，會吸引更多白血球進入腎臟，進而釋放出第一白血球介素、第二白血球介素、TNF- α ，來吸引更多之淋巴球進入發炎之位置；相對的會促使抗發炎之細胞激素，如第四白血球介素和第十白血球介素也相對活化，來擷抗發炎反應進行。發炎反應之結果促使組織之傷害、血管之通透性增加，而產生臨床表癥。NO 在腎絲球炎之好處是：(1)NO 是主要控制腎絲球內血流力學之角色可使腎絲球之血流量及提昇腎絲球之擴清率。(2)NO 會抑制血小板作用及抑制腎絲球之栓塞。(3)會抑制發炎前趨發炎物質，也會促進組織之修復。人類之上皮組織，會利用上皮氧化氮合成酶(eNOS)之催化作用將氨基酸 L-arginine 合成 NO，而 NO 之持續合成，來保持基本之血管活性，減少組織之傷害。細胞漿質素原活化因子抑制因子-1 (PAI-1)，雖然確切之 ECM 堆積及重塑機轉仍不明，但纖維素溶解途徑咸信扮演重要的角色，PAI-1 基因為纖維化形成之基因。Urokinase 給活化成細胞漿質素，而促使產生具活性的組織金屬蛋白-2 (Matrix metalloproteinase-2; MMP-2),二者會使間質蛋白分解。

方法：將曾在台中榮民總醫院接受腎臟切片證實為膜性腎病變病患，排除次發原因，病患共九十二人，另外對照組是成年人(大於 18 歲)為接受全身健康檢查，沒有腎臟疾病，經解釋說明同意接受基因之檢查，共一百四十五人。膜性腎病變病患之資料建檔是由病歷記錄取得，病患至少追蹤六個月以上。

抽取病週邊血後取得 genomic DNA，進行之聚合酶鏈反應，依基因標記可分為四大類：(1)發炎前驅細胞激素基因：包括 IL-1 β 啟動子、IL-1 β 第五外插序列、IL-1Ra(第一白血球介素受體拮抗者基因)、IL-2R β (第二白血球介素受體 β 鏈)和 TNF- α (腫瘤壞死因子- α)。(2)抗發炎激素之基因：IL-4 啟動子、IL-4 第三內插序列基因和 IL-10 啟動子基因。(3)內皮細胞氧化氮合成酶(NOS)基因：eNOS 啟動子和 eNOS 第四內插序列基因。(4)纖維化形成之基因：PAI-1 啟動子和 urokinase3'不轉錄區(3'-UTR)基因。與臨床症狀表現、免疫抑制劑之治療及其效果、病理變化之相關性作基因多型性。基因多型性對膜性腎病變病患之腎臟存活影響尚屬缺無，我們以統計方法(Kaplan-Meier 生存曲線)分析各基因型與腎臟之存活率之比較。

結果：膜性腎病變病患與正常對照組細胞激素之 IL-1 β 基因啟動子、IL-1 β 基因

第五表現序列、IL-1Ra、IL-2R β 、TNF- α promoter、IL-4 第三插入序列、PAI-1、eNOS 之內插因子，基因無論在基因型分佈、對偶基因頻率、對偶基因攜帶率均無明顯之差異性。IL-4 啟動子-590T 對偶基因，膜性腎病變之病患其 T 對偶基因攜帶率(100%)比正常人(94.2%)明顯增加(P = 0.030)。在膜性腎病變之病患 IL-10 promoter 的 -627A/-627A 基因型為 56.5%，較正常對照組 44.7%為高，其 P 值為 0.045，eNOS 之啟動子，在膜性腎病變之病患無 CC 同源合子基因型之分布(0%)，而對照組有 39(27.1%)，P 值<0.0001。而對偶基因之攜帶率則是 C = 17.4%，T = 100%與正常對照組之 C = 74.3%，T = 72.9%有較高之 T 攜帶率(p=0.0001)，C 對偶基因之風險對比值為 0.07，其 95%信賴區間是 0.04-0.14。

膜性腎病變病患以各基因多型性分析，針對臨床特性、病理分期與切片嚴重程度、不同藥物治療方式之反應性作相關性研究，含 4G 對偶基因者(4G/4G 及 4G/5G)者其疾病之進程較 5G/5G 同源合子基因型者快。

在 IL-10 啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影响，將其基因區分 C/C 同型合子、T/C 異型合子及 T/T 同型合子三組，依 Kaplan-Meier 生存曲線分析有顯著統計學上之意義(P = 0.004)。其他基因多型性則無統計學上之意義。

結論：本研究共納入九個蛋白十二個基因標記，而其中 eNOS 基因啟動子與疾病之相關性最為明顯，而 IL-10 啟動子基因及 Urokinase 不轉錄調控區亦有顯著相關，但後兩者之對偶基因發生率及攜帶率均無不同，表示其可能不如 eNOS 可作一指標性基因。

在膜性腎病病患與基因多型性之分析，我們得知 PAI 4G/4G 基因有可能作為治療預後之指標，因帶有此基因型者預後較差。另外 IL-10 基因啟動子-627*C/-627*C 基因型，依 Kaplan-Meier 生存曲線分析，膜性腎病變病患其腎臟之存活率較差，約只有六年，且有統計學上之意義(P = 0.004)。依目前之資料並不能在臨床表現、不同之治療方式之反應發現 IL-10 基因之相關性。但似乎與過去之研究相異的是-627*C/-627*C 基因型似乎腎臟之存活率較差，是否有病患選取之偏差及樣本數過少造成，仍待進一步釐清。膜性腎病病患所有研究基因中，因樣本數不大，而在分析臨床相關性，治療之預後及病理分期及嚴重程度幾乎無相關性。有待未來進行廣泛病患收集再作進一步探討。

目錄

	頁數
誌謝	1
中文摘要	2
目錄	4
表目錄	6
圖目錄	8
符號與縮寫	9
第一章 緒言	10
第一節 膜性腎病變之流行病學	10
第二節 膜性腎病變之臨床特徵	10
第三節 膜性腎病變之病理機制	10
第四節 膜性腎病變之實驗室發現	11
第五節 膜性腎病變之病理變化	11
第六節 膜性腎病變之病程與預後	12
第七節 膜性腎病變與基因及免疫因子之關係	12
第八節 膜性腎病變之危險因子	12
第九節 膜性腎病變之治療	13
第二章 文獻回顧	16
第一節 細胞激素及其接受器之文獻回顧	16
第二節 內皮細胞氧化氮合成酶之文獻回顧	17
第三節 細胞漿原活化因子抑制素之文獻回顧	18
第三章 材料與方法	20
第一節 概述	20
第二節 儀器設備	20
第三節 實驗試劑	21
第四節 病患及 DNA 之收集與抽取	21
第五節 聚合酶鏈反應	21
第六節 核酸之電泳、限制酶反應與對照組	23
第七節 電腦資料之處理	23
第四章 結果	25
第五章 討論	33
第六章 結論	38
第七章 表格	39

第八章 參考文獻	81
附錄一 圖	92
附錄二 個人經歷	105
附錄三 著作權聲	119
第九章 英文摘要	110

表目錄

	頁數
Table 1 細胞激素基因多型性之主要特徵及篩選技術	39
Table 2. Distribution of genotypes among the idiopathic membranous nephropathy (MN) patients and healthy control subjects	40
Table 3. Comparison of allelic frequencies and carriage rates observed in idiopathic membranous nephropathy (MN) patients	42
Table 4. IL- β promoter genetic polymorphism and clinical data	45
Table 5. IL- β promoter genetic polymorphism and pathological findings	46
Table 6. IL-1 β promoter gene polymorphism with different response modality	47
Table 7. IL- β exon 5 genetic polymorphism and clinical data	48
Table 8. IL- β exon 5 genetic polymorphism and pathological findings	49
Table 9. IL-1 β exon 5 gene polymorphism with different response modality	50
Table 10. IL-1RA genetic polymorphism and clinical data	51
Table 11. IL-1RA genetic polymorphism and pathological findings	52
Table 12. IL-1Ra gene polymorphism with different response modality	53
Table 13. TNF- α genetic polymorphism and clinical data	54
Table 14. TNF- α genetic polymorphism and pathological findings	55
Table 15. TNFA gene polymorphism with different response modality	56
Table 16. IL-2RB genetic polymorphism and clinical data	57
Table 17. IL-2RB genetic polymorphism and pathological findings	58
Table 18. IL-2R β gene polymorphism with different response modality	59
Table 19. IL-4 promoter genetic polymorphism and clinical data	60
Table 20. IL-4 promoter genetic polymorphism and clinical data	61
Table 21. IL-4 promoter gene polymorphism with different response modality	62
Table 22. IL-4 intron 3 genetic polymorphism and clinical data	63
Table 23. IL-4 intron 3 genetic polymorphism and pathological findings	64
Table 24. IL-4 Intron 3 gene polymorphism with different response modality	65
Table 25. IL-10 genetic polymorphism and clinical data	66
Table 26. IL-10 genetic polymorphism and pathological findings	67
Table 27. IL-10 gene polymorphism with different response modality	68
Table 28. eNOS promoter genetic polymorphism and clinical data	69
Table 29. eNOS promoter genetic polymorphism and pathological findings	70
Table 30. eNOS promoter gene polymorphism with different response modality	71
Table 31. eNOS intron 4 genetic polymorphism and clinical data	72
Table 32. eNOS intron 4 genetic polymorphism and pathological findings	73
Table 33. eNOS intron 4 gene polymorphism with different response modality	74
Table 34. PAI-1 genetic polymorphism and clinical data	75

Table 35. PAI-1 genetic polymorphism and pathological findings	76
Table36. PAI-1 gene polymorphism with different response modality	77
Table 37. Urokinase genetic polymorphism and clinical data	78
Table 38. Urokinase genetic polymorphism and pathological findings	79
Table 39. Urokinase gene polymorphism with different response modality	80

圖目錄

	頁數
圖一、膜性腎病變之治療指引	92
圖二、第一白血球介素 β 啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖	93
圖三、第一白血球介素 β 第五外插序列基因多型性的瓊膠電泳圖	93
圖四、第一白血球介素受體拮抗者基因多型性的瓊膠電泳圖	94
圖五、白血球介素二接受體 β 鏈啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖	94
圖六、腫瘤壞死因子 α 啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖	95
圖七、第四白血球介素啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖	95
圖八、第四白血球介素第三內插序列基因多型性的瓊膠電泳圖	96
圖九、第十白血球介素啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖	96
圖十、氧化氮合成酶啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖	97
圖十一、氧化氮合成酶第四內插序列基因多型性的瓊膠電泳圖	97
圖十二、PAI-1 基因啟動子之基因多型性的瓊膠電泳圖	98
圖十二之一、細胞漿質素原活化因子抑制因子(PAI-1)基因啟動子之基因多型性的核 酸序列圖。	99
圖十三、尿激素基因 3'不轉錄區(3'-UTR)基因多型性的瓊膠電泳圖	98
圖十四、第一白血球介素 β 啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線圖	100
圖十五、第一白血球介素 β 第五外插序列基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲 線圖	100
圖十六、第一白血球介素受體拮抗者基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線圖	101
圖十七、白血球介素二接受體 β 鏈啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲 線圖	101
圖十八、腫瘤壞死因子 α 啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線圖	102
圖十九、第四白血球介素啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線圖	102
圖二十、第四白血球介素第三內插序列基因多型性的瓊膠電泳圖	103
圖二十一、第十白血球介素啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線圖	103
圖二十二、氧化氮合成酶啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線圖	104
圖二十三、氧化氮合成酶第四內插序列基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線 圖	104
圖二十四、PAI-1 基因啟動子之基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線圖	105
圖二十五、尿激素基因 3'不轉錄區(3'-UTR)基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活 曲線圖	105

符號與縮寫

Membranous nephropathy (膜性腎病變)

Promoter (啟動子)

Exon (表現序列)

Intron (內插序列)

Allele (對偶基因)

Interleukin-1(IL-1；第一白血球介素)

Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra；第一白血球介素受體拮抗者基因)

Interleukin-2 receptor β chain (IL-2R β ；第二白血球介素受體 β 鏈)

Interleukin-4 (IL-4；第四白血球介素)

Interleukin-10 (IL-10；第十白血球介素)

Tumor necrosis factor- α (TNF- α ；腫瘤壞死因子- α)

Nitric oxide synthase (NOS；氧化氮合成酶)

Transforming growth factor- β (TGF- β ；變形生長因子- β)

Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1；細胞漿質素原活化因子抑制因子-1)

Urokinase gene (尿激素基因)

Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2；組織金屬蛋白-2)

Heterozygote (異型合子)

Homozygote (同源合子)

Allelic frequency (對偶基因出現頻率)：是代表特別對偶基因的個數合除以在組內所有對偶基因之總合。

Carriage rate (基因攜帶率)：為在含至少一個特定對偶基因的病患數除以組內所有病患數。

angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI；血管增壓素轉換酶抑制劑)

第一章 緒言

原發性膜性腎病變是成人腎病症候群最常見的原因[1]，因為它的發生率高。所以佔原發性腎絲球炎造成末期腎病變第二或第三常見原因[2]。在過去之 30 年此病預後似乎未有太大變化，其中 30%會在五年內自發性完全痊癒，但也有 25%之病患會在八年內進行到末期腎病變[3]。雖然我們努力的研究探討發病原因及更新治療方式，並使用更好的降血壓藥來降低血壓，但卻未能改善病患之預後。

第一節 膜性腎病變之流行病學

膜性腎病變為成人腎病症候群最常見原因，佔 20-40%[4]。其發生率佔切片病人的 3.3 至 14.9% [5]。在英國成人發生率為每年每百萬 55 人[6]，中國人則尚無此類統計，本院膜性腎病變係佔成人腎切片之 24.7%。在西方國家其佔成人腎病症候群的 25%，在老人族群(大於 60 歲)更高達 35%[7]。非腎性蛋白尿病人其發生率則只佔 8-10%，在嬰兒及兒童則少見。其中原發性膜性腎病變佔所有膜性腎病變的 62-86%，其中約有 20-40%膜性腎病變會與其他病變有關，可歸類為風濕性疾病，感染症，腫瘤，藥物及其他原因引起，造成之次發性之膜性腎病變。

第二節 膜性腎病變之臨床特徵

膜性腎病變主要發生於成人，大多見於 28-47 歲，但偶而見於新生兒，較常見於男性，佔 51-70%(男:女約 2:1)。腎病症候群為最常見的臨床特徵。Mallick 統計 515 位膜性腎病變病人於切片時有 84%為腎病症候群，其他作者統計也在 74-85%之間[8]。無症狀蛋白尿只佔 10-25%，且每日之蛋白尿量差異極大，為非選擇性蛋白尿。血尿則佔 20-55%，且以顯微性血尿為主。高血壓佔 20-40%，但少見於小孩。腎切片時腎功能不良亦少見，只佔 4-8%。尿沉渣為良性，多為玻璃性圓柱或橢圓性脂肪體。血清補體(C3,C4)濃度在原發性膜性腎病變為正常。

當發生於年紀很輕或很老的病人時，應考慮為次發性膜性腎病變。小孩常因感染造成，在日本和臺灣的統計尤常見於 B 型肝炎[9,10]。大於 60 歲老人應考慮腫瘤(佔 20-30%)，其中以肺癌及腸胃道腫瘤最常見[6]。

第三節 膜性腎病變之病理機制

雖然大部分病人的發病原因不明，原發性膜性腎病變是一常見且複雜多重因子的疾病，它包含了基因、免疫及環境因素，而造成其好發性及嚴重程度。致病機轉有三種學說[11]：

- 1、腎小球有預先存在的免疫複合體，包含低分子量抗原及低親合度 IgG 抗體。
此抗原的來源可以是內生性或環境中的病毒或職業上重金屬，有機溶劑暴露。
- 2、腎小球內在抗原對環境中抗體起反應，形成原位(in situ)免疫複合體沉積於腎小球表皮下細胞。
- 3、外在抗原與循環中抗體結合成免疫複合體，因化學或電子親合性，嵌入於腎

小球基底膜。活化補體系統，於局部形成 C5b-9 的沉積，因出現許多大的放射狀孔洞，導致微血管壁通透性增加，使 IgG 及白蛋白清除率增加。另外，局部過氧化物形成導致脂質過氧化反應也參與蛋白尿形成。

第四節 膜性腎病變之實驗室發現

實驗室的檢驗包括三方面：直接針對

- 一、 蛋白尿：每日排出蛋白尿量差異極大，多者可達 20gm。80%以上病人每日排出蛋白尿大於 3.5gm。顯微性血尿佔 30-50%，小孩較常見，紅血球圓柱則少見。尿中 C5b-9 和疾病的活動性有關。
- 二、 腎病症候群引起之變化：腎功能不全佔 10%。有時球蛋白流失，血清中 IgG 降低，但 IgM 則升高。腎病症候群病人可見低白蛋白血症，高脂血症。其中 LDL，VLDL 升高，HDL 量正常。但 HDL3 升高而 HDL2 降低，紅血球量升高。血中補體 C3，C4 正常，若降低應懷疑紅斑性狼瘡。
- 三、 原發疾病造成次發性膜性腎病變之檢驗：對於原發性疾病的檢驗，包括 B 型肝炎，C 型肝炎，冷球蛋白，抗核抗體，梅毒血清檢查和血糖。

第五節 膜性腎病變之病理變化

巨觀下，腎臟大小正常或稍大。組織學上可見電子緻密物沉積在腎絲球微血管外表皮側，介於基底膜及表皮細胞間，稱表皮下沉積(subepithelial deposit)。在銀染色可見嗜銀性釘狀物突起於基底膜，朝向鮑氏囊。腎間質(interstitial)損傷比腎小球受侵害與疾病預後的相關性更高。病理分期主要根據電子顯微鏡所見，一般分為四期(Ehrenreich & Churg, 1968)[12]。

第一期：表皮下沉積，光學顯微鏡所見腎小球正常，球間質(mesangium)及血管亦正常，無釘狀物。電子顯微鏡下可見表皮下沉積。

第二期：腎小球基底膜局部增厚，釘狀物形成。

第三期：微血管壁高度不規則且變厚，表皮下有較大電子緻密物沉積。

第四期：沉積物消失，基底膜不規則及增厚，幾無沉積物。可見大量空泡。

免疫螢光檢查，顯示有瀰漫性 IgG、C3 顆粒狀沉積於微血管壁，有人進一步分析發現主要為 IgG4。至於 IgA，IgM 較少見。有時合併局部硬化性腎病變，IgA 腎炎，甚至半月狀腎病變形成(crescent formation)。

次發性膜性腎病變，病理所見與原發性膜性腎病變類似。當合併有內皮下及球間質沉積，而免疫螢光檢查有各種免疫球蛋白及補體沉積時，應懷疑紅斑性狼瘡。其與 B 型肝炎相關之證據，在早年有人發現 HBsAg 沉積於腎小球，最近日本的研究則發現 HBeAg 沿著基底膜沉積。

第六節 膜性腎病變之病程與預後

病程差異性極大，長期來看可能的結果，包括：1、完全緩解，腎功能正常。2、持續蛋白尿，腎功能正常或惡化。3、持續惡化變成尿毒症。

對於原發疾病之檢驗極為重要，因為治療原發疾病可能緩解腎病症候群。若懷疑藥物引起則停藥，若感染引起則治療之，若腫瘤引起則需切除或其他治療。原發性膜性腎病變最常見結果是自發性痊癒，追蹤 3-5 年其自發性完全緩解率約 25%，部分緩解率則約 20-25%。至於小孩自發性緩解率更高於 50%，且 10 年腎臟存活率高於 90% [13]。痊癒後再復發並不少見，可達 30%。Ponticelli 在他研究的病人中發現 169 個病人追蹤 5 年，有 44% 完全痊癒。特別是用類固醇和細胞毒性藥物治療病患[14]。但大約 1/3 病人會復發。復發較常見於女性，但相對的她們較少惡化成尿毒症。

大約 25% 病人會惡化成尿毒症，五年存活率約 87%。目前知道腎功能持續惡化而不予治療，或對治療效果不佳時，將無可避免的惡化成尿毒症。雖然原發性腎病是在有廣泛之變異性，在對 11 個研究報告之存活率分析約是 70 到 90%[15]。而另一個對 32 個研究之分析十年之腎存活率是 65-75% 而 15 年之腎存活率是 60%。

預後不好的因素，包括嚴重腎病症候群，高血壓，年齡大於 50 歲，男性，診斷時腎功能不良[16]。而預後較好之因素為女性，小孩，藥物引起者，蛋白尿每日少於 3.5gm 且腎功能良好。

第七節 膜性腎病變與基因及免疫因子之關係

原發性膜性腎病變是一常見且複雜多重因子的疾病，它包含了基因、免疫及環境因素，而造成其好發性及嚴重程度。就免疫基因之觀點(diathesis)，常令人驚訝的發現膜性腎病變異會出現在一等血親。而其在白人及華人中人類組織抗原為 HLA-DR3 者好發本病，而在日本則與 HLA-DR2 有關。有趣的是在類風濕性關節炎,使用金劑或 Penicillamine 治療而產生膜性腎病變者則幾乎都不含 HLA-DR2 陽性或 HLA-DR3 陽性之病患。另外同第 6 對染色體短臂之人類組織抗原基因上之補體基因，Bf1 基因甚至比 HLA-DR3 好發膜性腎病變。另有研究亦發現 HLA-DR1 併有 HLA-DOA1 者好發膜性腎病變，而在日本則與第七號補體第 4 種表現型有關。而我們也發現男性具 HLA-B18DR3 及 Bf1 之預後較差。

第八節 膜性腎病變之危險因子

年齡：小孩子之預後較成人為佳[13]，且小於十歲以下者沒有腎功能不全的，而成人之預後較差，在 30~60 歲未治療之病患約有 50% 會成為慢性腎衰竭，但在 30 歲以下者則較少出現[14]。而 Schieppati 報告年齡 50 歲以上，明顯降低腎臟之存活[16]。而 Zucchelli 指出不治療而自己痊癒者與變成腎臟衰竭者年齡之比較，分別是 36.7 歲級

48.1 歲，在他的報告中雖然未達統計學之意義[17]，但年齡顯然是一重要危險因子。

性別：Hopper 等人指出男性比女性較易造成腎功能之惡化[18]，在追蹤平均約 99 個月之病患，腎功能在女性病患只有 17%有惡化，而男性則是 25%[14,16,19]。

蛋白尿：大多數的學者均同意膜性腎病變蛋白尿達腎病症候群，即較易成為尿毒者，反之則較不嚴重[14,20,21]。事實上，在無腎病症候群之蛋白尿比有腎病症候群者較少有進行至慢性腎衰竭之危險[22]。

腎功能：一般來說，腎切片時之腎功能，即可作為是否會腎衰竭之預測指標[12,23,24]。在 Honkanen 等人指出早期的指標因子是腎功能，病患有腎絲球濾過係數下降，即會發展成慢性腎衰竭，最後達到末期腎病變[25]。

腎絲球之分期：一般大致都認為腎切片之分期代表疾病之進展，不代表疾病之惡化[26]，但也有報告指出第 I 及 II 期比第 III 及第 IV 期較少會進行到尿毒症者[27,28]。

腎小管間質組織之損傷：腎小管間質組織為膜性腎病變預後之決定性角色。在 Wehrmann 所主持之多家醫學中心之研究，即指出此種損傷是預後較差之強而有力之指標[27]。

基因及免疫因子：人類淋巴球抗原似乎也會影響疾病之長期預後。在日本族群中雖然腎臟切片之組織變化較嚴重，但其預後仍比白種人好[29,30]，其可能歸因於日本人膜性腎病變之 HLADR2 有強烈的相關性。而義大利之報告則指出 HLA DR3+DR-較可能完全復原而 HLA DR3+DR8-則否[17]。

第九節 膜性腎病變之治療

膜性腎病變之治療方式約可分為二大類：第一類是免疫抑制性治療，目的是調整此疾病之免疫部分作用。第二類是非免疫抑制性治療，主要是在降低蛋白尿和延緩疾病之進程。其次是治療膜性腎病變造成之次發性作用，及減少免疫調節藥物造成之併發症[31]。

通常將病患分成三種不同危險群：

- (一) 低危險群病患：在六個月的觀察中，維持正常腎功能及肌酸酐廓清率，尿蛋白小於 4 克/天。
- (二) 中危險群病患：在六個月的觀察中，維持正常或近乎正常腎功能及肌酸酐廓清率，尿蛋白在 4 克/天 \leq 尿蛋白 $<$ 8 克/天。
- (三) 高危險群病患：在六個月的觀察中，有不正常或惡化之腎功能及肌酸酐廓清率，尿蛋白且/或持續尿蛋白 \geq 8 克/天。

治療原則是先觀察六個月以上，先控制血壓在 130/80 毫米汞柱，利用血管增壓素轉換酶抑制劑(angiotensin converting enzyme inhibitor; ACEI)來減少尿蛋白之排出。在這段時間內只需要定期追蹤腎功能、尿蛋白及控制血壓及評估其疾病進程之危險性（圖一）。

A. 目前治療之免疫藥物大概分為：

(1) 類固醇：

目前之研究顯示單獨使用類固醇是無效的，不但不能減少蛋白尿改善腎功能，甚至可能讓病患陷入中、高危險族群[32,33]。

(2) Ponticelli 治療計畫：

由義大利 Ponticelli 提出，發現使用類固醇併用細胞毒性藥物治療有效。可以明顯促進蛋白尿痊癒和腎功能改善[34,35]。治療方式是持續六個月之治療，在第一、三、五個月，前三天使用一克之 methylprednisolone (MTP)靜脈注射治療，之後使用口服類固醇 0.5 毫克/公斤/天，而在第二、四、六個月交替使用 chlorambucil (0.2 毫克/公斤/天)，在十年之追蹤有 8%治療者進入腎衰竭；而 40%未治療者進入腎衰竭。治療族群持續維持蛋白尿者只有 43%，但未治療者為 78%，另外可用 cyclophosphamide 來代替 chlorambucil，其效果亦如前者[36,37]。

(3) Cyclosporine(環孢靈)之治療：

環孢靈之治療在高危險群病患是相當有效的，其治療之劑量建議是 4 到 6 毫克/天治療 12 個月。Cattran 報告利用隨機進行環孢靈來治療高危險群病患，在 64 個剛開始使用低蛋白飲食，其中 17 個持續腎病症候群之蛋白尿且肌酸酐廓清率下降超過 8 毫升/分鐘/年，而使用環孢靈治療。發現在 12 個月治療後，使用環孢靈者下降速率較使用安慰劑組慢且較少蛋白尿。且停藥後二年仍有效[38,39]。但仍需大型之研究來支持這項結果。

B. 非免疫藥物之治療：

(1) 限制蛋白質飲食：

並不會使膜性腎病變完全痊癒。但可以減少蛋白尿及疾病惡化速率[41-43]。大多數膜性腎病變併腎病症候群者，建議限制蛋白質飲食 0.8 克/公斤/天。

(2) 控制高血壓之治療：

同時可以改善蛋白尿及使腎衰竭之進程延緩。在許多糖尿病及非糖尿病之病患，使用 ACEI 除了有治療高血壓之作用，還有腎臟保護之作用。雖然它的機轉仍不十分清楚，但可能有減少蛋白尿之作用，如此便可減輕腎小管因蛋白質造成間質組織之纖維化[44,45]

(3) 治療高血脂症：

在持續高蛋白尿之病患，腎功能受損會造成高血脂症及血栓性疾病，腎病症

候群通常是高膽固醇或低的高密度膽固醇和升高低密度膽固醇，而因此會增加心臟血管疾病及血栓性疾病形成[46,47]。使用 HMG-CoA 可以有效減少高血脂症甚至減少腎病症候群之蛋白尿。

目前膜性腎病變之治療評估方式是依其疾病之自然史及我們是否有能力去預測疾病之預後為基調。治療之方式依不同之醫師採取不同之治療方式，但大致上治療原則如圖一。治療之效果依其蛋白尿之減少及腎功能之變化可分為(一)治療無效或惡化(二)治療部分反應(三)治療痊癒等三級。雖然有許許多多臨床研究，以不同之治療藥物得到不同的結果，但膜性腎病變之治療仍需長期觀察其治療之長期預後、復發率和不良反應之發生。

第二章 文獻回顧

腎絲球在機能上是動脈血管所構成的過濾網，微血管上的內皮細胞使微血管有一個個的小洞，膜性腎病變是一種免疫複合物在腎絲球上沉著。免疫複合體進而活化補體系統，產生白血球趨化作用，會吸引更多白血球進入腎臟，進而釋放出第一白血球介素、第二白血球介素、TNF- α ，來吸引更多之淋巴球進入發炎之位置；相對的會促使抗發炎之細胞激素，如第四白血球介素和第十白血球介素也相對活化，來擱抗發炎反應進行。發炎反應之結果促使組織之傷害、血管之通透性增加，而產生臨床表癥。

一、細胞激素(cytokines)及其接受器與膜性腎病變之相關性：

免疫反應失調是造成腎臟疾病的主要原因，特別是腎絲球炎。細胞激素(cytokines)同時包括了免疫反應之傳入途徑及反應途徑(afferent & efferent arms)在許多腎絲球炎曾被報告過，包括腎間質增生腎絲球炎(mesangial proliferative GN)、免疫複合體腎絲球炎及自體免疫腎絲球炎[48-51]。在許多之活體內研究，我們知道細胞激素扮演者腎臟免疫機制調節的角色。而細胞激素包括：IL-1、IL-2、IL-4、IL-6、TNF- α 、CSF-1 及 IFN- γ 會調控免疫反應及造成自體免疾病(如：紅斑性狼瘡)[52]。

- a. Interleukin-1(IL-1；第一白血球介素)是一個很強之發炎前趨物，它具有參與發炎及組織破壞之中心角色。其基因位置在第二對色體上，與 IL-1Ra 相聯在同一染色體上[53]。很多細胞均能製造，但以巨噬細胞分泌最多，會產生白血球趨化作用、加強 Th 細胞增生、IL-2 接受體之表現和刺激 B 細胞分化增生。
- b. Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra；第一白血球介素受體拮抗者基因)是一個身體自身 IL-1 之競爭抑制因子，會與細胞表面之 IL-1 receptor 結合而不會促使訊息之傳導[54,55]，IL-1Ra 具有調節發炎反應及目前正進行藥物之臨床試驗中。
- c. Interleukin-2 receptor β chain (IL-2R β ；第二白血球介素受體 β 鏈)：IL-2R 有三個鏈： α 鏈：55KD 之多胜鏈， β 鏈：80-75KD 之多胜鏈和 γ 鏈：64KD 之多胜鏈，IL-2R α 鏈沒有可測得之生物活性，但能促使 IL-2R 之三個鏈結合在一起，產生很強的訊息傳導作用。抗原刺激 T 細胞造成 IL-2 之產生而且誘導高親合力之 IL-2 接受器(IL-2R)之產生。而 IL-2 與高親合力之 IL-2R 結合會促使 T 細胞之增生，而產生一連串之免疫反應。而高親合力之 IL-2R 含有 $\alpha\beta\gamma$ 鏈，而中親合力之接受器含有 $\beta\gamma$ 鏈，IL-2R β 鏈是主要具功能性之接受器之次單元。所以 IL-2 β 不僅是激素之接合親合位置，而且是促使 IL-2 傳導訊息引導進入細胞之主要角色。
- d. Interleukin-4 (IL-4；第四白血球介素)：是具抗發炎反應(anti-inflammatory properties)之細胞激素[56]。與 Th2 型免疫反應有關，在多發性硬化症病

患有抑制干擾素(IFN- γ)分泌之作用，故可減緩 IFN- γ 造成組織破壞反應 [57]。

- e. Interleukin-10 (IL-10；第十白血球介素)：同樣具有抗發炎反應 (anti-inflammatory properties)之作用，如同 IL-4 主要是由吞噬細胞單核球及淋巴球所製造[54,58]，可以改變 Th1 與 Th2 活性之平衡[59]，可對抗 Th1 產生細胞免疫活性[60]，對 TNF 作用產生負調節[61]。
- f. Tumor necrosis factor- α (TNF- α ；腫瘤壞死因子- α)：台北榮總於 1998 年報告在 MGN 及 MCD 病患之腎組織有 TNF- α 表現，代表典型之免疫活化作用，表示抗原被吞噬細胞呈現給 T-cell 後會促使 cytokine 分泌及白血球之趨化作用到腎絲球來。而 MGN 有明顯之細胞浸潤於腎間質區及整個腎絲球，顯示典型之免疫活化作用。而 TNF- α 強烈表現於 MGN 之腎臟上，表示抗原呈現細胞及免疫反應細胞是造成 MGN 之主因。

二、氧化氮合成酶(NOS; nitric oxide synthase)同質異型體與腎臟之關係：

不同之腎組織細胞能夠合成氧化氮(nitric oxide, NO)，需藉由三種氧化氮合成酶催化合成，此三種同質異型體分別為稱為[62]：

- (1) NOS I：位於 12q24.2 染色體上，是種神經或腦型 NOS (即 neuronal(nNOS) or brain (bNOS))，主要由腦神經系統而來，腎臟之緻密斑 (macula densa) 和遠曲小管均有分佈。
- (2) NOS II：位於 17q11.2-q12 染色體上，可誘發性 NOS (inducible (iNOS)) 主要在腎臟由巨噬細胞(macrophage)及血管平滑肌細胞表現。
- (3) NOS III：位於 7q35-q36 染色體上，腎臟血管內皮細胞 NOS (endothelial (ecNOS)) 表現為主，但上皮細胞亦會表現。

NO 在腎臟之致病機轉仍然未明，它具有損傷及保護作用：

- (a) NO 具有細胞毒性，經由過氧化物形成 peroxynitrite。
- (b) 會影響到腎絲球細胞，而吸引白血球浸潤而產生 autocrine 作用。
- (c) NO 在腎絲球炎之潛在優點：

甲、NO 是主要控制腎絲球內血流力學之角色可使腎絲球之血流量及腎絲球之擴清率。

乙、NO 會抑制血小板作用及抑制腎絲球之栓塞。

丙、會抑制發炎前趨發炎物質，也會促進組織之修復。

而本研究針對常見之啟動子及內插序列作研究。主要是過去的研究顯示利用 luciferase reporter gene(螢光酶報導基因)之研究分析 T-786→C 之突變，會使 eNOS gene 啟動子活性明顯下降[63]，故知其會影響此基因之功能，進而影響 NO 之產量。而第四內插序列之 a-deletion 對偶基因因為較易惡化之基因[64-66]。可能 a-deletion 對偶基因會使 NO 濃度較低，故 NO 合成之障礙可能扮演重要角色。近年研究也支持這種看法，在 a-deletion 之攜帶者較非攜帶者低 20%之 NO 代謝產物[67]。

然而eNOS基因在膜性腎病變之蛋白尿嚴重程度及其影響疾病之進程扮演重要角色。在動物及人類之上皮組織，會利用上皮氧化氮合成酶(eNOS)之催化作用將氨基酸 L-arginine 合成 NO [68]，而 NO 之持續合成，來保持基本之血管活性[69,70]。在冠狀動脈痙攣之病患血管張力會增加，而使用 NTG 促使血管活性改善[71,72]。而 eNOS 基因之 Intron 4 gene 多型性之 a-deletion 基因變形，與抽煙者之冠狀動脈疾病[73]，及日本人之原發性高血壓[74]及非糖尿病病患之末期腎病變(ESRD)[75]有關。

三、細胞漿質素原活化因子抑制因子-1 (PAI-1) 與尿素激酶(urokinase)

腎小管間質組織損傷與膜性腎病變：

腎小管間質組織損傷在腎絲球之病理機轉可能與免疫反應有關。剛開始腎絲球產生損傷，而後擴展至皮質區之腎小管而造成一個交插反應[76]，或在腎小管產生一個新的抗原決定位置暴露於發炎組織中，被免疫辨識系統辨識而產生[77]，而腎小管間質組織之功能明顯喪失，在腎絲球炎早期常伴有明顯之皮質區段之腎小管明顯結構之異常。而這些改變不但會影響疾病臨床病程之早期表現，也具有對長期預候之評估之價值[78]。

明顯的腎間質組織病變擴大，在不同之腎絲球炎會經由腎小管周圍之腎絲球後微血管之阻塞，而影響到腎絲球之過濾率[79]，亦有研究發現早期腎絲球炎在腎小管周圍會併有纖維化及單核細胞之浸潤。事實上，形態學之測量指標，腎小管之萎縮與肌酸酐之擴清率均有相關，表示結構上之改變是原發性腎絲球之最早變化。

腎小管腎間質纖維化與腎絲球硬化

TGF- β 若不考慮原發性之原因，腎臟進展至末期腎病變常涉及合併腎絲球硬化症及腎小管間質組織纖維化之最後常見之共同途徑。而最重要之細胞激酶(cytokine)，與腎絲球硬化及腎小管間質組織纖維化之病理機轉有密切相關者為變形生長因子- β (TGF- β ; transforming growth factor)[80-83]。TGF- β 會促使間質蛋白之增生。同時阻斷間質蛋白之分解[81]，而如發生在腎臟纖維化之過程中持續的活化 TGF- β 會造成間質持續不斷之堆積及造成組織傷害，而抑制 TGF- β 之生物活性會減少細胞外間質(ECM)之堆積及纖維化之進行[2,84-88]。

雖然確切之 ECM 堆積及重塑機轉仍不明，但纖維素溶解途徑成信扮演重要的角色[89]，而其中纖維素溶解在身體之主要控制因子為細胞漿質素原活化因子(PA; plasminogen activator)/細胞漿質素系統(plasmin)。細胞漿質素原會被組織漿原蛋白活化因子(t-PA)和尿素激酶(urokinase)給活化成細胞漿質素，而促使產生具活性的組織金屬蛋白-2 (matrix metalloproteinase-2; MMP-2)，二者會使間質蛋白分解。此過程會被相拮抗之細胞漿質素原活化因子抑制因子-1(plasminogen activation inhibitor-1, PAI-1)給抑制。即促使 t-PA 及 u-PA 不

活化，造成細胞漿質素原活化因子之產生下降，而造成細胞間質之累積。而細胞漿質素和細胞漿質素原活化因子抑制因子-1 均會在腎絲球內表現 [90,91]，促使腎間質轉換之重要調控機制。

第三章 材料與方法

第一節 概述

在實驗方法中，我們大致分成三部份來進行，分別是：

一、生化檢查：含血液及尿液

- (1) 血液：病患禁食八小時，空腹抽血，含腎臟功能、白蛋白、肝炎標記篩檢、免疫疾病指標篩檢。
- (2) 尿液：單次小便篩檢及二十四小時小便計算尿蛋白及肌酸酐廓清率。

二、基因多形性的遺傳學探討：如前述

三、病理切片：含光學顯微鏡、免疫螢光顯微鏡及電子顯微鏡

病理切片是由台中榮民總醫院腎臟病理醫師判讀，病理分期主要根據電子顯微鏡所見，主要是依 1968 年 Ehrenreich & Churg 提出之分法[12]：

第一期：表皮下沉積，光學顯微鏡所見腎小球正常，球間質(mesangium)及血管亦正常，無釘狀物。電子顯微鏡下可見表皮下沉積。

第二期：腎小球基底膜局部增厚，釘狀物形成。

第三期：微血管壁高度不規則且變厚，表皮下有較大電子緻密物沉積。

第四期：沉積物消失，基底膜不規則及增厚，幾無沉積物。可見大量空泡。

依照光學顯微鏡下，採用半計量之方式，將病患之病理結構變化區分為：無(0%)、輕度(小於 25%)、中度(介於 25%到 50%之間)及重度(大於 50%)，分析病患之腎小球硬化比率、腎小管間質組織纖維化比率及腎臟血管纖維內皮層之增生比率。

第二節 儀器設備

本研究所使用之大型儀器設備和其廠商多種與產地如下：

- 1、生化檢查機：Hitach 747 和 Hitach 7170
- 2、聚合酶鏈反應機器：Perkin-Elmer Gene Amp PCR system 2400 (Foster City, USA)
- 3、高速離心機：Beckman Model J2-21(Palo.AHO,USA)
- 4、離心機：Kubota 5800, Kubota 1300(Japan), Biofuge 12000(Germany)
- 5、冷凍乾燥機：Dara-Dry (FTS system, New York, USA)
- 6、瓊膠電泳系統：Cosmo Bio. Mapid-2 mini gel migration through (Japan)
- 7、核酸染色照相系統：Evergene gel analysis system(England,UK)

第三節 實驗試劑

- 1、DNA 抽取試劑：Genomaker (Bloosm, Taipei)
- 2、聚合酶：Perkin Elmer Tag polymerase (Foster City, USA)
- 3、限制酶：New England Biolabs Inc. (Beverly, USA)

第四節 膜性腎病變病患及正常人的 DNA 收集

對照組是成年人(大於 18 歲)前來台中榮民總院接受全身健康檢查，經解釋說明同意接受基因之檢查，而經過篩選腎功能正常($Cr \leq 1.3\text{mg/dl}$)單次小便檢查，無蛋白尿及血尿、腎臟超音波檢查沒有腎臟萎縮，超音波回音未增加，共一百四十五人。

將膜性腎病變病患為曾前來台中榮民總醫院接受腎臟切片證實為膜性腎病變病患，經病理檢驗為膜性腎病變排除因腫瘤、藥物、免疫疾病及感染(含 B 型、C 型肝炎)之病患九十二人。

無論正常人或膜性腎病變病患均經徵求同意後施行。抽取病週邊血後以抗凝劑保存，離心抽取 buffy coat，利用標準之 proteinase K 分解蛋白質及 phenol/chloroform 萃取法 genomic DNA。

膜性腎病變病患之資料建檔是由病歷記錄取得，包括臨床症狀、發病年齡、高血壓之有無、剛發病之腎功能及蛋白尿與血尿、免疫抑制劑之治療及其效果、治療及追蹤時間、最後追蹤之腎功能及蛋白尿。

第五節 聚合酶鏈反應(polymerase chain reaction)

本研究所進行之聚合酶鏈反應均以程式控制熱循環溫度的 GeneAmp PCR 產物以表一詳列：

(1) 第一白血球介素- β 基因 (IL-1 β gene)

本實驗所用引子序列是根據 Digiovine 等人[92,93]報告。第一白血球介素- β 啟動子，其基因多型性是位於上游-155 的位置，聚合酶鏈反應後的產物，以 Ava I 切割，"C"對偶基因在電泳上會是 190-bp 和 114-bp 長，而"T"對偶基因則會是 304-bp 長(圖二)。

第一白血球介素- β 表現序列 5 基因多型性，則以 Tag I 來切割，"E1"等級則產生 135bp 加 114bp 長之基因產物，"E2"等級則是 249bp 長之基因產物(圖三)。

第一白血球介素受體拮抗基因，第二插入序列的 86-bp 前後銜重複變異數(Variable number tandem repeat VNTR)分成"I"等級是 410-bp，"II"的等級是 500-bp，"III"的等級是 240-bp，"IV"是 325bp，而 595bp 的長度是"V"等級(圖四)。

(2) 第二白血球介素受體 β 鏈基因 (IL-2R β gene)

IL-2R β 基因是位在染色體 22q11.2-q12。而在 IL-2R β 基因 SNP4065 位置，使用 Hae III 將其切成 78-bp 及 23-bp 者為含核酸”T”之對偶基因。含核酸”C”之對偶基因則會被 Hae III 切成為 63-bp 和 15-bp 及 23-bp 三個基因片段(圖五)。而”T”為較少見之對偶基因，其促使 IL-2R β 之啟動子之表現比”C”對偶基因者強。

(3) 腫瘤壞死因子- α 基因 (TNF- α gene) :

TNF- α 基因位在第 6 對染色體之人類組織抗原複合體(MHC)的 class II 區，是在染色體中節(centomeric)距 HLA-B locus 250Kb 之位置，而距 HLA-DR locus 約在終節(telomeric) 850Kb 之位置[94]。在 TNF- α 基因啟動子之位置有一個核酸-308 位置，有一個點突變通常是 guanine(G; TNFA-1)，但另一較少見者為 adenine(A)稱 allele2 (TNFA-2)。而 TNF-2 是一較 TNFA-1 強之轉譯(transcription)之活化因子，有”較高”之 TNF- α 產生之表現型。使用 Nco I 將其切成 20-bp 及 97-bp 者為含核酸”G (guanine)”之對偶基因，稱 TNFA-1。若無法切斷則為 117-bp 含核酸”A (adenine)”之對偶基因，稱 TNFA-2 (圖六)。TNFA-2 對偶基因常會與 HLA-A1/B8/DR3/DQ2 相連結，而其常與自體免疫疾病[95-98]甚至膜性腎病變有關。

(4) 第四白血球介素基因 (IL-4 gene) :

IL-4 基因是位在第五染色體 5q23-q31。IL-4 基因啟動子之基因多型性是位於上游-590 的位置，聚合酶鏈反應後的產物以 Bsm FI 切割，”C”對偶期因在電泳上會是 192-bp 及 60-bp 長，而”T”對偶基因則會是 252-bp 長(圖七)。第三插入序列的 70-bp 前後銜重複變異數(Variable number tandem repeat VNTR)，依瓊膠電泳圖分成 RP1 是 183-bp， RP2 是 253-bp (圖八)。

(5) 第十白血球介素基因 (IL-10 gene) :

IL-10 基因是位在第五染色體 5q23-q31。IL-10 基因啟動子之基因多型性是位於上游-627 的位置，使用 Rsa I 將其切成 176-bp 及 236-bp 者為含核酸”A”之對偶基因。若無法切斷則為 412-bp 含核酸”C”之對偶基因 (圖九)。

(6) 氧化氮合成酶基因(eNOS gene)

eNOS 基因常被討論到的有四個對偶基因位置：

(a) 啟動子(promoter)：在啟動子基因-786 位置(T-786→C)，使用 NgoM IV 將其切成 117-bp 及 96-bp 者為含核酸”C”之對偶基因。若無法切斷則為 213-bp 含核酸”T”之對偶基因 (圖十)。

(b) Intron 4：可在第四內插序列基因，上有 27-bp 前後銜重複變異數(Variable number tandem repeat VNTR)之聚合酶鏈反應產物，有四個重複序列稱 a-deletion(400-bp)及五個重複序列之 b-insertion (420-bp) (圖十一)。

(c) Exon 7：之 G894T 會使胺肌酸 Glatamine 被 Asparine 取代

(d) Intron13：上有(CA) n 之重複序列之聚合酶鏈反應產物。

然而 eNOS 基因在膜性腎病變之蛋白尿嚴重程度及其影響疾病之進程扮

演之角色，及其相關性仍不明確，故我們選啟動子(promoter)和第四內插序列(intron 4)基因二者作 eNOS gene 之代表。

(7) 細胞漿質素原活化因子抑制因子-1 基因(PAI-1 gene)：

PAI-1 4G/5G 基因型鑑定，在 Genomic DNA 內 PAI-1 基因啟動子有一 4G/5G 基因之多型性，視其 3'端是 4 個 G 或 5 個 G，檢定方法用具 allele 專一性之上游引子(如下)。將所有參與研究者之 Genomic DNA 與各與專一性之上游引子跑聚合酶鏈反應產物：

(a) Insertion 5G 對偶基因 5'-GTC TGG ACA CGT GGG GG-3'

(b) Deletion 4G 對偶基因 5'-GTC TGG ACA CGT GGG GA-3'

而每個對偶基因均與一個共同之下游引子 5'-TGC AGC CAG CCA CGT GAT TGT CTA G-3'會產生一個 139 核酸 DNA 片段。另外用一個對照之上游引子 5'-AAG CTT TTA CCA TGG TAA CCC CTG GT-3'作為陽性 PCR 之控制組(其結果如圖十二)。依 PCR 之方法，依其 139bp PCR 在 4G 或 5G 之電泳膠片產生呈色現象。得到之結果可分為同源合子 4G4G 和 5G5G，異型合子 4G5G，為保證所作出來之 PCR 基因無誤，我們也作 4G 或 5G 之核酸序列(如圖十二之一)。

(8) 尿激素基因(Urokinase gene)：

Urokinase 基因是位在第 10 對染色體 10q24。尿激素基因 3'不轉錄區(3'-UTR)基因多型性的瓊膠電泳圖。在 3'不轉錄區基因+4065 位置(過去被命名為：G27040)，使用 ApaI 將其切成 112-bp 及 25-bp 者為含核酸"TT"之對偶基因。若無法切斷則為 137-bp 含核酸"CT"之對偶基因(圖十三)。

第六節 核酸之電泳，限制酶反應與照相

通常以 10 μ l 的聚合酶鏈反應產生載入 3%瓊膠中內令 ethidium bromide 螢光劑，在電泳結束後以核酸染色照相系統拍照，並據以判別其結果。

第七節 電腦資料的處理

實驗的統計之方式以 SPSS10.0 (SPSS Inc.Chicago)表作統計分析統計。統計分析：

對偶基因出現頻率(allelic frequencies)：是代表特別對偶基因的個數合除以在組內所有對偶基因之總合。而**基因攜帶率(Carriage rates)：**為在含至少一個特定對偶基因的病患數除以組內所有病患數。以利用來分析在膜性腎病變及正常控制組之差異性。費雪氏精確試驗統計(Fisher's exact test)是用來比較膜性腎病變及正常對照組之間的基因頻率差異性及臨床症狀、病理切片及預後和藥物治療反應之相關性。勝算比(Odds ratio)是用來計算疾病之好發率或嚴重程度在帶有特定對偶基因之方式，而 95%

信賴區間(95% CI)可利 OR 方式計算得到。

(1)卡方試驗:用於基因單核苷酸變異性的分佈差異檢驗及各種非連續變數之檢定，但當卡方試驗中標本數小於 30，其中單一數值低於一或有五分之一數值低於 5 時則應用費氏精確檢驗。

(2)單一變數分析(ANOVA)：在連續變數變項中,依基因多形性變化作統計分析。

(3)Kaplan-Meier 生存曲線：是用此統計方法分析各基因型與腎臟之存活率之比較。

(4)相關性研究：在蛋白尿程度,病理分期腎小管間質組織纖維化及追蹤時間用 Spearman 相關性檢定.

(5)統計學上 $P < 0.05$ 為有統計學上意義

第四章 結果

甲、基因多型性與膜性腎病變之研究

一、發炎前驅細胞激素和膜性腎病變之關係：

病患及正常對照組之基因型分佈、細胞激素對偶基因之發生率和攜帶率之資料分析見表二和表三。以費雪氏精確試驗統計(Fisher's exact test)分析，在膜性腎病變病患 IL-1 β 基因 promoter 及第五表現序列基因型分佈與對照組織間並沒有統計學上的差異。膜性腎病變病患與正常對照組不論在 IL-1Ra, IL-2R β , TNF- α promoter 基因無論在基因型分佈、對偶基因頻率、對偶基因攜帶率均無明顯之差異性。

二、IL-4 啟動子-590T 對偶基因，在膜性腎病變之病患比正常對照組增加，但沒有明顯之差異性(P = 0.062)。但膜性腎病變之病患其 T 對偶基因攜帶率(100%)比正常人(94.2%)明顯增加(P = 0.030)。IL-4 第三插入序列，其基因型分佈、對偶基因之發生率和攜帶率並無明顯之增加。

三、IL-10 promoter 的-627A/-627A 基因型在膜性腎病變之病患為 52 人(56.5%)較正常對照組 46 人(44.7%)為高，其 P 值為 0.045。而比較其-627A 對偶基因之發生率為 134(72.2%)與正常組 143(69.4%； P = 0.529)及-627A 對偶基因攜帶率為 82(89.1%)而對照組 97(94.2%； P = 0.308)，均無明顯之差異性。可能表示 IL-10 promoter 為-627A/-627A 基因型者較容易罹患膜性腎病變。

四、eNOS 之基因和膜性腎病變之關係

eNOS 之內插因子 4，其前後重複之變異數在 a-deletion 出現機率較小，而大多均是 b-insertion 出現，不論在基因型之分布，對偶基因之發生率及攜帶率在膜性腎病變病患及正常對照組並無不同。

而 eNOS 之啟動子，在膜性腎病變之病患無 CC 同源合子基因型之分布(0%)，而對照組有 39(27.1%)，P 值<0.0001。而其對偶基因之發生率 C 為 8.7%，T 為 91.3%與正常對照組之 C = 50.7%和 T = 49.2%有明顯之不同(p<0.0001)，而對偶基因之攜帶率則是 C = 17.4%，T = 100%與正常對照組之 C = 74.3%，T = 72.9%有較高之 T 攜帶率(p=0.0001)，C 對偶基因之風險對比值為 0.07，其 95% 信賴區間是 0.04-0.14。亦即 CC 同源合子基因型者較不易罹患膜性腎病變。

四、PAI-1 及 Urokinase

PAI-1 基因分布在膜性腎病變及正常對照組並無明顯之不同。相同的在對偶基因之發生率及對偶基因之攜帶率兩組均無明顯不同。

Urokinase 基因分布在膜性腎病變其 CC 同源合子 80 (87%) 比正常對照組 100 (95.2%)明顯較少 (P = 0.039)，而 C 對偶基因之發生率(6.5% vs. 2.4%； P = 0.077)，T 對偶基因之攜帶率在膜性腎病變為 13%是正常對照組為 4.8% (危險因子=3.0，其 95% 信賴區間 1.02-8.87； P = 0.070)雖無顯著差別，但有 C 對偶基因較少之趨勢。

就我們觀察膜性腎病變，在 IL-10 啟動子-627A/-627A 同源合子有較高分佈(p=0.045)

urokinase(尿激素)有較少 CC 同源合子($P = 0.039$)，在 eNOS-promoter 則為 CC 同源合子出現($p < 0.0001$)，但就其對偶基因之發生率只有 eNOS-promoter 其 T 對偶基因發生率及攜帶率遠大於 C 對偶基因發生率($p < 0.0001$)，而 urokinase 及 IL-10 promoter 對偶基因發生率及攜帶率僅能見到其對偶基因分佈之趨勢，但無統計學上之意義。

乙、基因多型性對膜性腎病變病患之臨床表現影響之研究

〈一〉發炎前驅激素之基因多型性與臨床相關性之研究

IL-1 β promoter(白血球介素- β 啟動子) 基因：

(A) 臨床特性之相關性

膜性腎病變病患以 IL-1 β promoter 之基因多型性，依 -511*C/-511*C、-511*C/-511*T 及 -511*T/-511*T 分成三組，不論在切片時之年齡、追蹤的時間、身體質量指標(BMI)、平均血壓、剛開始之白蛋白、膽固醇及三酸甘油酯、腎功能、二十四小時尿蛋白及肌酸酐之廓清率，均無明顯差別。而大血管之意外(含冠狀動脈及週邊血管)，及最後追蹤之腎功能、二十四小時尿蛋白及肌酸酐之廓清率亦無明顯差別。而治療後病患產生惡性腫瘤或疾病病程惡化或完全之恢復均無不同(表四)。

(B) 病理變化之相關性

在膜性腎病變病患依 IL- β promoter 不同基因多型性之分組，在病理分期，腎絲球硬化症、間質組織纖維化及血管之纖維內皮層增生均無明顯之差異(表五)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

在膜性腎病變病患依 IL- β promoter 不同基因多型性之分組，在接受保守觀察療法或免疫抑制劑治療(含類固醇單獨使用、義大利治療計畫及環孢靈之治療均無明顯之差別)(表六)。

IL-1 β 第五表現序列基因：

(A) 臨床特性之相關性：

在膜性腎病變病患依 IL-1 β 第五表現序列基因型只有 E1/E1 及 E1/E2。而無 E2/E2 基因型出現，而 E1/E2 之病患均為女性與 E1/E1 之男女比為 49/38，其 p 值為 0.02，而 E1/E2 有較高之高三酸甘油酯症(467.0 ± 243.0 vs 210.0 ± 143.7 , $p < 0.001$)，其他臨床之特性則無明顯之不同(表七)。

(B) 病理變化之相關性

在膜性腎病變病患依 IL-1 β 第五表現序列基因分類，在 E1/E2 之五位病患均屬第三期之膜性腎病變(100%)，但與 E1/E1 之分佈情形無統計學上之差異性。而觀察其病理切片有較多之腎絲球硬化 $\leq 25\%$ 佔三位(60%)， $\geq 25\%$ 佔二位(40%)，雖較 E1/E1 較嚴重，但因樣本較少亦無統計學上之意義。但似乎有 E2 對偶基因者有較高之病理分期，腎絲球硬化、腎小管間質組織之纖維化及血管纖維內皮層之增生之趨勢，但均無統計學上之意義(表八)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

在膜性腎病變病患依 IL-1 β 第五表現序列基因分類，在不同治療方式，以觀察膜性腎病變之反應均無顯著之差異(表九)。

IL-1 RA(白血球介素-受體拮抗者)基因：

(A)臨床特性之相關性：

大多數之膜性腎病變病患與正常之對照組相同均是 I/I 同源合子，而與 II/II 同源合子及 I/II 異型合子作分析，如(表十)；在 I/II+II/II 組之平均血壓較 I/I 同源合子者高(107.6 \pm 21.0 vs 97.8 \pm 12.3; p=0.027)，而其餘臨床特性均無明顯之差異。

(B)病理變化之相關性：

依卡方試驗檢定 IL-1 Ra 不同基因型 I/I, I/II, II/II 之研究，顯示不論在膜性腎病變之分期，腎絲球硬化症，腎小管間質組之纖維化及血管纖維內皮層之增生均無顯著差異(表十一)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

因 I/II+II/II 僅有十一位病患接受不同之治療方式，故所得到的樣本數極少，與 I/I 同源合子比較時均無明顯差異性(表十二)。

IL-2 R β (白血球介素二接受器 β 鏈)基因：

(A)臨床特性之相關性：

T allele 為較少發生之對偶基因，而在 IL-2R β 之三種不同基因分佈中，異型合子 T/C 有較高之平均血壓 103.3 \pm 14.8, p=0.019，而在 T/T 組有較高比率之心臟血管疾病(33.3%, p=0.013)，而其他臨床特性則無明顯之差異(表十三)。

(B) 病理變化之相關性：

不同之基因型對病理之分期、腎絲球硬化症、腎小管間質纖維化及血管纖維內皮層增生並無明顯之影響(表十四)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

使用環孢靈治療在 IL-2R β 不同之基因型中，C/C 對偶基因病患達到完全緩解之比率 80%較異型合子 T/C 或同型合子 T/T 效果尤佳(P = 0.006) (表十五)。

TNF- α (腫瘤壞死因子- α) 基因：

(A)臨床特性的相關性：

TNF- α promoter 之三種基因型多型性中，較常見之 G 對偶基因為 TNFA1 同源合子之 TNFA1/TNFA1 有較多之病患切片之年齡為 57.7 \pm 18 歲比較少出現之 TNFA1/TNFA2 與 TNFA2/TNFA2 之 63.0 \pm 10.2 歲為輕，P 值為 0.004 故 TNFA1/TNFA1 組發病年齡可能較早。而經追蹤平均 6.3 年後其腎功能 Cr = 2.1 \pm 0.3 比含 TNFA2 對偶基因組之 Cr = 2.2 \pm 0.5，並無明顯之差異，甚至保有較好肌酸酐廓清率(61.7 \pm 40.1 vs 56.7 \pm 32.7, P = 0.291)的趨勢，雖無統計學上的意義(表十六)。

(B) 病理變化之相關性：

TNF- α 之三種基因型與疾病之病理分期與切片嚴重程度無明顯相關(表十七)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

TNFA1/TNFA1 同源合子在使用保守療法 85.7%為無反應與 TNFA1/TNFA2 有 66.7%會得到緩解者有明顯之差異，P 值為 0.039，其他不同之治療方式，則無明顯差異(表十八)。

〈二〉抗發炎激素之基因多型性與臨床相關性之研究

IL-4 promoter gene(第四白血球介素啟動子)基因：

(A)臨床特性之相關性：

IL-4 promoter gene 在-590 位置於膜性腎病變病患無 C/C 同型合子之產生，而異型合子 C/T 和同型合子 T/T 在臨床特性上均相似，但在下肢水腫部分在 C/T 異型合子者(96.8%)，而 T/T 同型合子者(73.8%; P = 0.009) 有顯相差異 (表十九)。

(B)病理變化之相關性：

第四白血球介素啟動子基因 C/T 及 T/T 二組在疾病之病理分期與切片嚴重程度無明顯相關並無差異(表二十)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

第四白血球介素啟動子基因 C/T 及 T/T 二組在不同藥物治療方式之反應性均無明顯之差異(表二十一)。

IL-4 Intron 3 gene(第四白血球介素第三內插因子基因多型性)基因：

(A) 臨床特性的相關性：

PR2 對偶基因出現率較低，而膜性腎病變病患則無 RP2/RP2 同型合子分佈。對同型合子 RP1/RP1 及異型合子 RP1/RP2 分析，身體質量指標在 RP1/RP2 異型合子 $25.8 \pm 4.1 \text{ kg/m}^2$ 較 RP1/RP1 同型合子者為 $24.1 \pm 3.1 \text{ kg/m}^2$ 為高(P = 0.028)，而下肢水腫亦較好發於 RP1/RP2 異型合子，其為 29 (96.7%)比 RP1/RP1 同型合子者為 46 (74.2%; P = 0.009)有明顯差異。其餘臨床特性則無相異(表二十二)。

(B) 病理變化之相關性：

在病理分期上 RP1/RP2 及 RP1/RP1 之病理分期與切片嚴重程度無明顯相關且無差異(表二十三)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

RP1/RP2 及 RP1/RP1 二兩基因型在使用保守療法或免疫抑制治療無明顯差異(表二十四)。

IL-10 promoter(第十白血球介素啟動子)基因：

(A)臨床特性的相關性：

IL-10 promoter 之 AA, AC, CC 三種基因型在膜性腎病變之病患者臨床特質無統計上之差異性，除在 CC 基因型病患下之水腫(100%)較 AA 同型合子(86%)或

AC 異型合子(66.7%)有明顯之差異($P = 0.023$)，而含有 CC 之同源合子其白蛋白較低且腎功能較差之趨勢，但無統計學上之差異(表二十五)。

(B)病理變化之相關性：

異型合子 CA 之病理分期多為第一及第二期佔 33.3%較 AA 同源合子(7.7%)及 CC 同源合子(10%)有明顯之差異($P = 0.036$) (表二十六)。

(C)不同藥物治療方式之反應性：

IL-10 promoter 之三種基因型與各種治療方式之反應並無相關(表二十七)。

〈三〉內皮細胞氧化氮合成酶(NOS)基因多型性與臨床相關性之研究：

eNOS promoter gene (氧化氮合成酶基因)：

(A)臨床特性的相關性：

膜性腎病變病患以 eNOS promoter 之基因多型性，依異型合子 CT 及同源合子 TT 分成二組，在臨床特性均無明顯之差異(表二十八)。

(B) 病理變化之相關性：

膜性腎病變病患以 eNOS promoter 之基因型，區分為異型合子 CT 與同源合子 TT，其與病理分期與切片嚴重程度無明顯相關且無差異(表二十九)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

膜性腎病變病患以 eNOS promoter 之基因型，區分為異型合子 CT 與同源合子 TT，與各種治療方式之反應性亦無明顯之相關(表三十)。

eNOS intron 4(氧化氮合成酶第四內插序列)基因：

(B)臨床特性的相關性：

膜性腎病變病患以 eNOS intron 4 之基因多型性，依異型合子 a-deletion/b-insertion 及同源合子 b-insertion/b-insertion 分成二組，在臨床特性分析均無明顯之差異(表三十一)。

(B) 病理變化之相關性：

膜性腎病變病患以 eNOS intron 4 之基因多型性，因無同源合子 a-deletion/a-deletion 基因型，故依異型合子 a-deletion/b-insertion 及同源合子 b-insertion/b-insertion 分成二組，其與病理分期與切片嚴重程度無明顯相關且無差異(表三十二)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

膜性腎病變病患以 eNOS intron 4 之基因多型性，依異型合子 a-deletion/b-insertion 及同源合子 b-insertion/b-insertion 分成二組，與各種治療方式之反應性亦無明顯之相關(表三十三)。

〈四〉纖維化形成之基因多型性與臨床相關性之研究：

PAI-1 (第一細胞漿素活化因子抑制因子之基因啟動子)基因：

(A) 臨床特性的相關性：

在利用含 4 個 G 及 5 個 G 不同引子序列，所得到之 4G/4G，5G/5G 同源合

子及 4G/5G 異型合子在臨床特性均無明顯之差異，但 5G/5G 組其疾病之進程較 4G4G 及 4G5G 者緩慢，而追蹤其腎功能肌酸酐值 1.7 ± 0.7 克/毫升較 4G4G 之 3.2 ± 0.7 及 4G5G 之 2.8 ± 0.6 有較佳之趨勢，但其 P 值為 0.362 無統計學上意義(表三十四)。

(B) 病理變化之相關性：

PAI-1 基因之多型性 4G4G, 4G5G 和 5G5G 與病理之分期及切片之嚴重程度並無明顯相關(表三十五)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

PAI-1 基因之多型性 4G4G, 4G5G 和 5G5G 與各種治療方式之反應性亦無明顯之相關(表三十六)。

Urokinase(尿激素)基因：

(A) 臨床特性的相關性：

較不常見之 T 對偶基因的同型合子 T/T，在膜性腎病變病患並未發現，而再含有 T 對偶基因之異型合子 C/T 以較高之男性好發率 10/12(83.3%)較 C/C 同型合子之 39/80(47.5%)有明顯之差異(P = 0.031)，而其切片年齡亦較輕 47.2 ± 19.4 歲較 C/C 同型合子之 60.7 ± 15.3 歲有明顯較早發病之趨勢(P = 0.007)，而追蹤期間 C/T 異型合子較短 2.6 ± 2.0 與 C/C 同型合子之 5.4 ± 4.6 年短，但其腎功能之變化雖兩組無明顯之統計學上意義，但 C/T 異型合子之肌酸酐(2.0 ± 0.4)及與追蹤時間較長之肌酸酐(2.1 ± 0.2)相近，表示腎功能有較易惡化之趨勢(表三十七)。

(C) 病理變化之相關性：

Urokinase 基因之 C/T 異型合子與 C/C 同型合子，在病理之分期及切片之嚴重程度並無明顯差異(表三十八)。

(C) 不同藥物治療方式之反應性：

Urokinase 基因之 C/T 異型合子與 C/C 同型合子，與各種治療方式之反應性亦無明顯之相關(表三十九)。

丙、基因多型性對膜性腎病變病患之腎臟存活影響之研究

原發性膜性腎病變是一常見且複雜多重因子的疾病，它包含了基因、免疫及環境因素，而造成其好發性及嚴重程度。許多研究分析原發性膜性腎病變之危險因子，如嚴重之腎病症候群、高血壓，年齡大於 50 歲，男性，診斷時腎功能不良[16]。而基因多型性對膜性腎病變病患之腎臟存活影響尚屬缺無，我們以統計方法(Kaplan-Meier 生存曲線)試圖分析各基因型與腎臟之存活率之比較。腎臟之存活乃以病患達到腎功能衰竭(肌酸酐 $\geq 8\text{mg/dL}$ 或肌酸酐廓清率 $< 8\text{ml/min}$)或病患死亡。

(一) 發炎前驅激素之基因多型性與腎臟存活的影响

(1) 將膜性腎病變病患，評估 IL-1 β 基因啟動子基因多型性的腎臟存活的影响，將其基因區分 -511*C/-511*C 同型合子與 -511*C/-511*T 異型合子及

- 511*T/-511*T 同型合子兩組，依 Kaplan-Meier 生存曲線分析病患達到腎功能衰竭之時間差異，雖無統計學上之意義($P = 0.056$)，但-511*C/-511*C 同型合子之腎臟存活較差之趨勢(圖十四)。
- (2) 在 IL-1 β 第五外插序列基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影響，將其基因區分 E1/E1 同型合子與 E1/E2 異型合子及 E2/E2 同型合子兩組，依 Kaplan-Meier 生存曲線(圖十五)分析無統計學上之意義($P = 0.681$)。
 - (3) 在 IL-1Ra(第一白血球介素受體拮抗者)基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影響，將其基因區分 I/I 同型合子與 I/II 異型合子及 II/II 同型合子兩組，依 Kaplan-Meier 生存曲線(圖十六)分析無統計學上之意義($P = 0.614$)。
 - (4) 在 IL-2R β (第二白血球介素受體 β 鏈)基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影響，將其基因區分 C/C 同型合子、C/T 異型合子及 T/T 同型合子三組，依 Kaplan-Meier 生存曲線(圖十七)分析無統計學上之意義($P = 0.857$)。
 - (5) 在 TNF- α (腫瘤壞死因子- α)基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影響，將其基因區分 TNFA-1/TNFA-1 同型合子與 TNFA-1/TNFA-2 異型合子及 TNFA-2/TNFA-2 同型合子兩組，依 Kaplan-Meier 生存曲線(圖十八)分析無統計學上之意義($P = 0.335$)。

(二) 抗發炎激素之基因多型性與臨床相關性之研

- (1) 在 IL-4 基因啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影響，將其基因區分 C/T 異型合子及 T/T 同型合子兩組，依 Kaplan-Meier 生存曲線(圖十九)分析無統計學上之意義($P = 0.519$)。
- (2) 在 IL-4 基因第三內插序列基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影響，將其基因區分 RP1/RP1 同型合子及 RP1/RP2 異型合子兩組，依 Kaplan-Meier 生存曲線分析(圖二十)無統計學上之意義($P = 0.560$)。
- (3) 在 IL-10 啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影響，將其基因區分 C/C 同型合子、T/C 異型合子及 T/T 同型合子三組，依 Kaplan-Meier 生存曲線(圖二十一)分析有顯著統計學上之意義($P = 0.004$)。

(三) 內皮細胞氧化氮合成酶(eNOS)基因多型性與臨床相關性之研究

- (1) 在 eNOS 基因啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影響，將其基因區分 C/T 異型合子及 T/T 同型合子兩組，依 Kaplan-Meier 生存曲線(圖二十二)分析無統計學上之意義($P = 0.927$)。
- (2) 在 eNOS 基因第四內插序列基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影響，將其基因區分 a-deletion/b-insertion 異型合子及 b-insertion/b-insertion 同型合子兩組，依 Kaplan-Meier 生存曲線(圖二十三)分析無統計學上之意義($P = 0.842$)。

(四) 纖維化形成之基因多型性與臨床相關性之研究

- (1) 在 PAI-1 基因啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影响，將其基因區分 4G/4G 同型合子、4G/5G 異型合子及 5G/5G 同型合子三組，依 Kaplan-Meier 生存曲線（圖二十四）分析無統計學上之意義($P = 0.350$)。
- (2) 尿激素基因 3'不轉錄區(3'-UTR)基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活的影响，將其基因區分 C/T 異型合子及 C/C 同型合子兩組，依 Kaplan-Meier 生存曲線分析（圖二十五）無統計學上之意義($P = 0.885$)。

第五章 討論

所有疾病都有遺傳相關的因素存在[99]，但大多數疾病都是多因子構成的複雜疾病，這類疾病可能是一群基因些微的改變，並與環境因素互動所致。要找尋這些複雜疾病的基因群，利用傳統基因連鎖分析，來檢驗複雜疾病，會發生因發病年齡較高，取得診斷不易，或因基因座太多而受限[100]。而基因多型性可以作為遺傳標記的選擇[101]，單核苷酸多型性(SNPs)標記符合了遺傳學研究方法的需求，且方便、快速、經濟和精確。SNPs的分析可以定出那一段基因可能與疾病相關聯[102]。故找尋複雜疾病的基因群使用基因多型性之研究是較佳之方式。膜性腎病變是一多種因子之複雜之疾病，包含了基因、免疫及環境因素，其間之互動過程作用，均可造成疾病之發生，適合用此方法研究。

利用探討某基因會增加疾病的風險，病患出現之頻率較正常人高，表示有基因型之相關連[103]。而基因多型性之研究不但可提供病患產生某種疾病的風險評估，亦可作預測疾病之嚴重程度及預後之指標，在未來更可最為選擇藥物治療之參考[104]或基因治療之基石。膜性腎病變為成人腎病症候群中好發之最主要原因之一，過去對疾病之發病機轉、病理分期及嚴重程度、藥物治療方式的研究相當多，而基因因素的研究多侷限於人類組織抗原之相關性研究。

這種研究通常需要大量的基因標記來檢定大數量的族群，才能完成一個複雜疾病的檢測工作。本實驗依疾病病理機轉選擇免疫相關之細胞激素多型性研究、血管活性之內皮細胞氧化氮合成酶之多型性研究及細胞間質堆積及纖維化相關之 PAI-1 及 urokinase 基因多型性研究。

膜性腎病變之基因背景資料仍未被確認，許多與人類淋巴球組織抗原相關，而本研究選取九種蛋白十二個基因之多型性來研究其基因分布、對偶基因之發生頻率、對偶基因之攜帶率與膜性腎病變之發生率是否有相關性。另外探討對偶基因是否對膜性腎病變之臨床表現、病理分期及嚴重程度及藥物治療之反應是否有影響。

eNOS 基因多型性似乎與膜性腎病變相當有關，在 CC 同源合子在膜性腎病變之病患並未出現，而對照組則有 27.1%，P 值<0.0001，而過去許多研究發現啟動子-786C 之對偶基因會促使 eNOS 啟動子之功能下降[63]，而近年亦有研究指出攜帶 a-deletion 對偶基因者會比無此對偶基因者少 20%之 NO 代謝產物產生[67]。在老鼠之動物模型中，發現降低 NO 之製造會促使糖尿病腎病變之病程惡化，可能是經由如增加腎血管之張力及促成血管張力素 II(Angiotensin II)之作用機轉造成[105,106]，但在人類卻無相關之研究報告。本研究亦指出 a-deletion 不論攜帶率或發生率均未見有增加之趨勢。然而 T-786C 啟動子之對偶基因，在膜性腎病變之病患其-786*C/-786*C 同源合子未有分布，而-786*C 突變出現之頻率原本較低，且會抑制 eNOS 基因之轉譯。而在 eNOS 基因-786*C 對偶基因會減少冠狀動脈疾病之病患冠狀動脈上皮 NO 產量之下降[67]，而 NO 會抑制如 endothelin 及 angiotensin II 此類很強之血管收縮因子之產生，促使血管之平滑肌之增生[107,108]，因此在突變之對偶基因-786*C 其 NO 生產下降會造成血管收縮因子及平滑肌細胞增生；而使血管之活性增加。雖然在腎臟疾病 NO 扮演之角色仍有許多爭議。在活體抑制 NO 之產生在動物之腎絲球炎模式有不同結果。在 anti

Thy-1 模型 NO 中和 MRL-1pr/1pr 老鼠加入 NOS 抑制 NG monomethyl-L- arginine 之 NO 形成會減少腎絲球損傷[109]。但同樣之處理會使腎毒性腎絲球炎之蛋白尿惡化[110]。而 Furuso 等在檢定 NO 在腎絲球炎之關係時發現 eNOS 及 iNOS 在特殊染色法會出現在人類腎臟之腎絲球炎，特別是 IgA 腎病變及紅斑性狼瘡腎病變。eNOS 在腎絲球之表現與 iNOS 相反，eNOS 及 iNOS 在膜性腎病變之表現則與對照組無不同，表示 eNOS 在膜性腎病變可能扮演較中庸角色，不如增生性腎絲球炎[111]。

PAI-1 基因在中國人罹患紅斑性狼瘡的病患，其 4G4G 基因型有較高之重度蛋白尿發生率，且比較其紅斑性狼瘡活性指標大於 8 者，均較 4G5G 及 5G5G 有明顯之相關。而嚴重腎絲球之壞死性損傷亦較後兩者嚴重，故認為 4G4G 基因可作為紅斑性狼瘡病患預後之指標基因[112]。而我們的研究資料顯示 PAI-1 基因 4G/5G 基因多型性無法當成膜性腎病變患者之篩檢基因，因其與正常對照組之對偶基因分佈頻率是非常的相似的。

PAI-1 在 5G5G 基因型組其疾病之惡化較含有 4G 對偶基因之 4G5G 及 5G5G 為緩慢。而過去的研究 4G4G 基因型者有最高之 PAI-1 活性，而 5G5G 基因型之 PAI-1 基因活性較少[113-115]，而 PAI-1 基因若過度表現，會造成細胞漿素酶原/細胞漿素系統之不平衡。會促使纖維素沉著於腎絲球之微血管，而促使腎絲球之損傷而造成微血管之栓塞及發炎細胞之浸潤[116]。而 PAI-1 是一重要之腎纖維化因子[117]，利用特殊抗體胜蛋白拮抗劑、Antisense oligonucleotide 或 decoy oligonucleotides 抑制 PAI-1 之活性及 PAI-1 之合成，可在體外得到預防或治療腎臟纖維化之方式。而日本在第二型糖尿病病患 4G4G 基因型比 4G5G 及 5G5G 者常併有血管之併發症；但在糖尿病患三組間之發生率是相同的[48]，而相同的，在白種人第一型糖尿病病患 4G4G 基因在糖尿病視網膜病變有相關性。但在中國第二型糖尿病患者 4G5G 基因型與糖尿病腎病變有關，且特別在 ACE 基因之 DD 型特別有關[89]；故本實驗證實 PAI-1 4G4G 基因的確會影響病患之疾病之惡化之進程。

但在病理變化上，我們卻無法得到 PAI-1 基因多型性與之相關性。雖然說抑制 PAI-1 合成或其活性，證明對腎臟纖維化有好處，但需要強調的是 PAI-1 亦具有保護之作用。如在內皮受損老鼠造成動脈狹窄之模式，在 U-PA 缺乏時延緩血管之內皮再生能力，但 PAI-1 缺乏則會增進內皮增生，而在 PAI-1 缺乏之老鼠加入 PAI-1 會抑制過多之新內皮細胞之增生[115-116]，故 PAI-1 應視為兩面刀之作用。

在本實驗中 Urokinase 基因 3'-UTR (3'端不轉譯區) "T" 對偶基因，在膜性腎病變病患其攜帶率是正常對照組之相對危險因子 3 倍 (95% 信賴區間 1.02-8.87) 表示 3'-UTR 之 "T" 對偶基因可以是膜性腎病變病患之基因指標。

Urokinase gene 會表現在腎臟細胞，而且在尿液中會有 Urokinase 蛋白之出現[120-123]。而 Urokinase 是一個尿蛋白分解酶，屬於 serine 蛋白酶中會促使纖維蛋白之分解過程。而 Urokinase 促使漿質酶原成為漿質酶而使栓塞之纖維原及一些細胞外之間質分解如 laminin 及 fibronectin，是一種解除發炎反應方法及促使細胞外間質組織之分解，減少堆積[124-126]。而 Urokinase gene 在 3'-UTR 有多型性基因變異，"T" 對

偶基因為較少出現基因型，且”T”對偶基因之活性較”C”對偶基因低，或可造成膜性腎病變腎絲球之硬化症及間質組織纖維化。

但在病理變化與基因多型性的分佈中並未發現”T/C”基因與”T/T”基因有顯著之差異，且基因多型性之分佈對治療方式的不同反應，亦未見有明顯影響。雖過去研究顯示在易得狼瘡性老鼠或使用內毒素血症之老鼠減少 Urokinase mRNA 之表現，會促使腎臟顯微血栓之形成及促使腎臟損傷之進行。但其均是增生性腎絲球炎；與膜性腎病變之病變明顯不同，似乎 Urokinase gene 不是主要影響之途徑。

發炎前驅細胞激素基因多型性研究：

利用免疫細胞化學方法合成酶鏈反應及 in situ hybridization 來評估抗白血球細胞漿抗體（ANCA）陽性之腎絲球病患如：Wegener's granulomatosis 及 microscopic polyangitis，可在病患之腎臟切片及血漿中發現 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-2 接受器。而利用 IL-1 接受器拮抗因子（IL-1Ra）會使腎絲球之細胞增生，腎絲球之壞死、半月狀形成及腎絲球之巨噬細胞之堆積減少。在 IgA 腎絲球炎之病患，因其 IgA 糖化過程之缺陷，促使 IgA 在腎臟間質細胞內沉著，而使間質細胞之增生及慢性腎絲球發炎之反應。

在 IgAN 在 IL-1 β 與 IL-1Ra 有明顯相關，而其主要解釋可能是 IL-1Ra 與 IL-1 β 相近可能是體外 IL-1 β 基因最強之強化調節因子[127]。然而膜性腎病之致病機轉或許與 IgA 腎絲球炎有所不同，其為免疫複會誘發補體系統，可能較少細胞激素扮演之角色。而臨床上之相關性似乎亦不大。

TNF- α ：

在膜性腎病變剛開始是免疫複合體沉著於足狀細胞[128]，進而促使補體之活化形成 C_{5b-9}及臟器內皮細胞產生 TNF- α [129]。而尿液中之 TNF- α 在活化之膜性腎病變化分泌會增加，而糖尿病之病患則否[130]。過去本院發現 TNF2 之攜帶率在 IgA 腎病變之病患較正常人為低[131]，且 TNF2 有較明顯之肉眼血尿表現[131]。而在 TNF 之轉譯能力與 TNF2 對偶基因（-308）雖然有關，但 TNF- α 在血中濃度與基因多型性分佈之相關性仍不清楚，而 TNF- α 在發炎部位，對局部濃度的影響是不可預測的[132]。而此即可能造成病患臨床表現、病理變化及治療方式不同之結果。

在紅斑性狼瘡病患 TNF2 會降低紅斑性狼瘡腎侵犯之危險性[132]，故 TNF- α 是一種雙面的功能，在感染早期具有發炎前驅反應而在感染晚期則是具有抗發炎或免疫調節之作用[132]。故在病患有不明抗原誘發慢性發炎反應，應可用此方式來解釋。

至於膜性腎病變如同本院 IgA 腎病變之發現 TNF2 基因與疾病之惡化進程無關。細胞激素之多型基因研究可能與疾病有關，但影響疾病之嚴重程度及惡化程度可能有其他非免疫之機轉參與，如：高血壓、蛋白尿及代謝之異常，可能扮演重要角色。目前本研究資料無法支持發炎前驅細胞激素之基因多型性可作為膜性腎病變良好之基因標記。

抗發炎細胞激素基因研究

IL-4 在啟動子於過去研究中 -589*T 基因型與異位性皮膚炎及過敏性氣喘

[133-136]，而-589*T 對偶基因在美國白人其與 IgE 有相關性，而在澳洲及英國白人則無此相關性[134]，而 IL-4 基因之排列不同會影響到 IL-4 基因之表現。在亞洲-589*C 基因之分佈較少[135]，本研究中膜性腎病變者則無 CC 同源合子之出現。IL-4 在病理分期及嚴重程度也無法顯示其可作為診斷及治療之重要指標。

IL-4 第三內插因子基因研究可知不同之重複序列，會有不同濃度之細胞激素分泌能力。在類風濕性關節炎之病患，發現 IL-4 沒有 RP1 和-590*T 對偶基因之危險因子比攜帶有此對偶基因者為低。而 RP1 對偶基因與其他對偶基因之多型性有相連不平衡的相關性，IL-4 基因是位在第五對染色體之長臂，包含一系列之細胞激素(IL-3, IL-5, IL-9, IL-13, IL-15, GM-CSF 及干擾素調控因子)的基因產生之蛋白，具有不同免疫反應之重要作用[137]。而每個基因均非常相近約 700kb 以內。而在人類染色體 5q31-33，所包含之基因群為 Th2 相近之細胞激素基因，其與支氣管之過敏反應、異位性皮膚炎和氣喘有關[138]，而在類風濕性關節炎病人降低異位性皮膚炎之發生率，可解釋類風濕性關節炎和異位性皮膚炎之基因多型性不同相關性。

而本研究發現 RP2/RP2 對偶基因雖在膜性腎病變之病患不出現，但並無統計學上之意義。且病理分期及嚴重程度、不同治療藥物之反應及臨床表現，亦無明顯之不同。故 IL-4 之第三插入因子多型性基因，目前無法當成膜性腎病變之指標基因。

膜性腎病變之病患 IL-10 基因多型性研究，我們發現在同型合子 AA 或 CC 之出現率較異型合子出現機率高($P = 0.045$)，雖在對偶基因及攜帶率並無差異。IL-10 是抑制免疫增生及發炎反應的重要因子[139]，其經由 Th0, Th1 (IL-2 和干擾素- γ (INF- γ)) 和 Th2 (IL-4, IL-5)細胞之反應，減少單核球之抗原呈現能力及下降 HLA class II 分子和 B7 在細胞表面之表現，來抑制抗原專一性的活化作用[140-143]。IL-10 具有很強之抗發炎反應，會降低發炎前驅細胞激素及化學激素之分泌，如減少單核球或 Kuffer cell 受內毒素刺激，產生之 IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8 和 IL-12 或增加 IL-1Ra 之合成[144-146]。另外 IL-10 具有抗纖維化之作用，在肝臟可經由抑制肝臟星狀細胞之膠原蛋白基因之轉譯和增加膠原蛋白酶之作用減少纖維化。

IL-10 之-627*A 對偶基因，其 IL-10 表現較低，故較亦有發炎及免疫反應和纖維化前驅機轉作用，造成喝酒病患之肝硬化[147]。然而在我們的研究中，AA 基因型確實在膜性腎病變病患有較高之比率($P = 0.045$)，而其病理分期亦可發現在 AA 同源合子基因在 III 及 IV 期者為多($P = 0.036$)，但 CC 同源合子亦是相同之分佈，故-627*A/-627*A 是否可作為膜性腎病變之指標基因，仍需進一步累積病患數來評估。相反的，在-627*C/-627*C 基因型依 Kaplan-Meier 生存曲線分析，膜性腎病變病患其腎臟之存活率較差，約只有六年，且有統計學上之意義。依目前之資料並不能在臨床表現、不同之治療方式之反應發現 IL-10 基因之相關性。但似乎與過去之研究相異的是-627*C/-627*C 基因型似乎預後較差。

本研究試圖探討膜性腎病變與基因多型性之相關性，但由於追蹤二十年內之病患，因遷移、死亡、基本資料之更改，雖儘可能之聯絡，僅收集到 92 位病患，檢測的群體數不足，常造成資料分析無法顯示出統計學之意義。而基因之多型性可能直接

引起疾病、天擇的結果、族群採樣階層化、統計上的誤差或基因的連續不平衡的結果[148]，鑑於病患回溯性研究蒐集不易，我們將依據赫爾新基協定告知所有未來接受腎臟切片病患，參與本院引導之前瞻性基因研究計畫，作一中長期之病情觀察及基因相關性之探討。

而膜性腎病變為一複雜、多因子之疾病，除了免疫因素外，環境因素亦是重要的導因，相關基因功能性的分析，可以幫忙釐清基因在疾病發生所扮演的角色，指出基因之關聯性，方可有深入突破。另外，因基因連鎖不平衡之結果，需作各類基因型之結合分析，可能有助解開疾病之本質之迷。

目前膜性腎病變基因之研究侷限在 HLA 之相關性研究，而其他免疫、細胞激素、組織纖維化相關之研究尚屬缺無；而膜性腎病變又是成人最常見腎病症候群之一，早期診斷給予適當之治療或可改善疾病之進程，而目前仍缺乏可告知之預測指標。而我們期望能夠在這領域有所突破，未來在後基因時代能夠利用基因晶片來作診斷及預測其預後，利用基因治療改善不良之基因，利用基因調控對藥物之反應不同，來選擇適當藥物治療。如此在疾病之防治及治療方可節省不必要之支出或減少病患疾病不良之進展。

第六章 結論

膜性腎病變是一複雜且多因子之疾病，除免疫複合體誘發之免疫反應，其他非免疫之因子，如：高血壓、高血脂症造成血管之硬化、藥物造成腎小管之纖維化、重複性感染造成腎臟之損傷都扮演重要之因素。

目前我們利用分子遺傳學之方式試圖探討膜性腎病變之相關性，並與臨床之表徵、病理分期及病理變化嚴重程度、藥物治療之療效及其預後之相關性作分析，本研究共納入九個蛋白十二個基因標記，而其中 eNOS 基因啟動子與疾病之相關性最為明顯，而 IL-10 啟動子基因及 Urokinase 不轉錄調控區亦有顯著相關，但後兩者之對偶基因發生率及攜帶率均無不同，表示其可能不如 eNOS 可作一指標性基因。

而在膜性腎病病患與基因多型性之分析，我們得知 PAI 4G/4G 基因有可能作為治療預後之指標，因帶在此基因型者預後較差。另外 IL-10 基因啟動子-627*C/-627*C 基因型，依 Kaplan-Meier 生存曲線分析，膜性腎病變病患其腎臟之存活率較差，約只有六年，且有統計學上之意義(P = 0.004)。依目前之資料並不能在臨床表現、不同之治療方式之反應發現 IL-10 基因之相關性。但似乎與過去之研究相異的是 -627*C/-627*C 基因型似乎腎臟之存活率較差，是否有病患選取之偏差及樣本數過少造成，仍待進一步釐清。

然而在膜性腎病病患所有研究基因中，因樣本數不大，而在分析臨床相關性，治療之預後及病理分期及嚴重程度幾乎無相關性。有待未來進行廣泛病患收集再作進一步探討。

由於核酸多型性是廣泛的基因體學研究，目前篩選之基因仍不足構成連鎖，因此將來必須篩選更多合適基因，臨床檢測基因以確定其關聯性，利用數學運算方式，來定訂可預測膜性腎病變發生之準確度，描繪其可能基因連鎖圖，進而找出膜性腎病變之致病基因。利用基因治療改善不良之基因，利用基因調控對藥物之反應不同，來選擇適當藥物治療。如此在疾病之防治及治療方可節省不必要之支出或減少病患疾病不良之進展。

第七章 表格

表一、 細胞激素基因多型性之主要特徵及篩檢技術

Gene polymorphisms	Type	Site	Upstream primer	Downstream primer	Annealing T	enzyme	allele size
IL-1B promoter	single base C/T	position-511	5'-TGGCATTGATCTGGTTCATC-3'	5'-GTTTAGGAATCTTCCCACCTT-3'	60	Ava I	C:190+114bp, T:304bp
IL-1B exon5	single base	exon5	5'-GTTGTCATCAGACTTTGACC-3'	5'-TTCAGTTCATATGGACCAGA-3'	58	Taq I	E1:135+114bp, E2:249bp I: 410-bp, II: 240bp,
IL-1RA	86-bp VNTR	intron2	5'-CTCAGCAACACTCCTAT-3'	5'-TCCTGGTCTGCAGGTAA-3'	60		III: 500bp, IV: 325bp, V: 595bp RP1: 183bp ,
IL-4 intron3	70-bp VNTR	intron3	5'-AGGCTGAAAGGGGAAAGC-3'	5'-CTGTTACCTCAACTGCTCC-3'	60		RP2: 253bp C: 192+60bp ,
IL-4 promoter	single base C/T	position-590	5'-ACTAGGCCTCACCTGATACG-3'	5'-GTTGTAATGCAGTCCTCCTG-3'	58	Bsm FI	T: 252bp C: 412bp ,
IL-10 promoter	single base C/A	C-627A	5'-GGTGAGCACTACCTGACTAGC-3'	5'-CCTAGGTCACAGTGACGTGG-3'	60	Rsa I	A: 176+236bp T: 23+78bp ,
IL-2RB(SNP228953)	single base C/T		5'-AAGGACACCATTCCGTGGCT-3'	5'-CCGGTGTTCTGCAGTTGAT-3'	60	Hae III	C: (23+15)+63bp
TNF-alpha	single base G/A	Promoter -308	5'-AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT-3'	5'-ACACTCCCCATCCTCCCTGCT-3'	60	Nco I	A: 117bp , G:20+97bp
ecNOS promoter	single base C/T	promoter -786	5'-GCATGCACTCTGGCCTGAAGTG-3'	5'-CAGGAAGCTGCCTTCCAGTGC-3'	55	NgoM IV	T: 213bp; C: 117+ 96 bp a- deletion : 400bp ,
ecNOS-intron4	27-bp VNTR	intron 4	5'-TGGTTATCAGGCCCTATGGTAG-3'	5'-GCCTGAGGGTAAAGCTATTGTCG	61		b- b-insertion : 427bp
Urokinase (SNP4065)	single base C/T	3'UTR	5'-CCCCTTTCTTGCTGGTTGCTAIT-3'	TGC-3'	59	ApaL I	C:137bp , T:112+25bp

*The PCR conditions consisted of 35 cycles at 95°C for 30 seconds for denaturation, followed by annealing for 30 seconds, and extension for 72°C for 45 seconds.

Table 2. Distribution of genotypes among idiopathic membranous nephropathy (MN) patients and healthy control subjects

Genotype	MN patients	Controls	<i>P</i> value
IL-1β promoter			
Total n	92	103	0.563 ^a
- CC	19 (20.7 %)	27 (26.2 %)	
- CT	53 (57.6 %)	52 (50.5 %)	
- TT	20 (21.7 %)	24 (23.3 %)	
IL-1β exon 5			
Total n	92	103	0.854 ^a
- E1/E1	87 (94.6 %)	98 (95.1 %)	
- E1/E2	5 (5.4 %)	5 (4.9 %)	
- E2/E2	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	
IL-4 promoter			
Total n	92	103	0.062 ^a
- CC	0 (0.0 %)	6 (5.8 %)	
- CT	31 (33.7 %)	34 (33.0 %)	
- TT	61 (66.3 %)	63 (61.2 %)	
IL-4 intron 3			
Total n	92	103	0.160 ^a
- RP1/RP1	62 (67.4 %)	66 (64.1 %)	
- RP1/RP2	30 (32.6 %)	33 (32.0 %)	
- RP2/RP2	0 (0.0 %)	4 (3.9 %)	
TNF-α			
Total n	88	103	0.182 ^a
- TNFA1/TNFA1	68 (77.3 %)	89 (86.4 %)	
- TNFA1/TNFA2	19 (21.6 %)	14 (13.6 %)	
- TNFA2/TNFA2	1 (1.1 %)	0 (0.0 %)	
IL-2RB			
Total n	92	100	0.153 ^a
- CC	31 (33.7 %)	22 (22.0 %)	
- CT	44 (47.8 %)	52 (52.0 %)	
- TT	17 (18.5 %)	26 (26.0 %)	
IL-10			
Total n	92	103	0.045 ^a
- A/A	52 (56.5 %)	46 (44.7 %)	
- A/C	30 (32.6 %)	51 (49.5 %)	

- C/C	10 (10.9 %)	6 (5.8 %)	
Urokinase (SNP4065)			
Total n	92	105	0.039 ^a
- CC	80 (87.0 %)	100 (95.2 %)	
- CT	12 (13.0 %)	5 (4.8 %)	
- TT	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	
PAI-1			
Total n	92	145	0.349 ^a
- 4G/4G	30 (32.6 %)	50 (34.5 %)	
- 4G/5G	42 (45.7 %)	74 (51.0 %)	
- 5G/5G	20 (21.7 %)	21 (14.5 %)	
ENOS-promoter			
Total n	92	144	< 0.0001 ^a
- CC	0 (0.0 %)	39 (27.1 %)	
- CT	16 (17.4 %)	68 (47.2 %)	
- TT	76 (82.6 %)	37 (25.7 %)	
ENOS-intron4			
Total n	92	100	0.626 ^a
- a-deletion/a-deletion	0 (0.0 %)	1 (1.0 %)	
- a-deletion/b-insertion	18 (19.6 %)	20 (20.0 %)	
- b-insertion/b-insertion	74 (80.4 %)	79 (79.0 %)	
IL-Ra			
Total n	92	103	0.475 ^a
- I/I	81 (88.0 %)	95 (92.2 %)	
- I/II	10 (10.9 %)	6 (5.8 %)	
- II/II	1 (1.1 %)	1 (1.0 %)	
- IV/IV	0 (0.0 %)	1 (1.0 %)	

a: Pearson Chi-square test

Table 3. Comparison of allelic frequencies and carriage rates observed in idiopathic membranous nephropathy (MN) patients

Gene allele	Allelic frequency			Allelic carriage			OR (95% CI)
	MN no. (%)	Controls no. (%)	<i>P</i> value	MN no. (%)	Controls no. (%)	<i>P</i> value	
IL-1 β promoter							
Total gene	184	206	0.770 ^b	92	103		
-511 C	91 (49.5)	106 (51.5)		72 (78.3)	79 (76.7)	0.929 ^b	1.09 (0.56 - 2.15)
-511 T	93 (50.5)	100 (48.5)		73 (79.3)	76 (73.8)	0.457 ^b	1.37 (0.70-2.67)
IL-1 β exon 5							
Total gene	184	206	1.0 ^c	92	103		
- E1	179 (97.3)	201 (97.6)		92 (100)	103 (100)	—	—
- E2	5 (2.7)	5 (2.4)		5 (5.4)	5 (4.9)	1.0 ^c	1.13 (0.32-4.02)
IL-4 promoter							
Total gene	184	206	0.219 ^b	92	103		
-590C	31 (16.8)	46 (22.3)		31 (33.7)	40 (38.8)	0.552 ^b	0.80 (0.45-1.44)
-590T	153 (83.2)	160 (77.7)		92 (100)	97 (94.2)	0.030 ^c	—
IL-4 intron 3							
Total gene	184	206	0.431 ^b	92	103		
- RP1	154 (83.7)	165 (80.1)		92 (100)	99 (96.1)	0.124 ^c	—
- RP2	30 (16.3)	41 (19.9)		30 (32.6)	37 (35.9)	0.737 ^b	0.86 (0.48-1.56)
TNF-α							
Total gene	176	206	0.120 ^b	88	103		
- TNFA1	155 (88.1)	192 (93.2)		87 (98.9)	103 (100)	0.461 ^c	—
- TNFA2	21 (11.9)	14 (6.8)		20 (22.7)	14 (13.6)	0.146 ^b	1.87 (0.88-3.97)
IL-2RB (SNP4065)							
Total gene	184	200	0.075 ^b	92	100		
- C	106 (57.6)	96 (48.0)		75 (81.5)	74 (74.0)	0.282 ^b	1.55 (0.78-3.09)
- T	78 (42.4)	104 (52.0)		61 (66.3)	78 (78.0)	0.099 ^b	0.56 (0.29-1.05)
IL-10							
Total gene	184	206	0.529 ^b	92	103		
- 627A	134 (72.8)	143 (69.4)		82 (89.1)	97 (94.2)	0.308 ^b	0.51 (0.18-1.46)
- 627C	50 (27.2)	63 (30.6)		40 (43.5)	57 (55.3)	0.131 ^b	0.62 (0.35-1.09)
Urokinase (SNP4065)							
Total gene	184	210	0.077 ^b	92	105		
- C	172 (93.5)	205 (97.6)		92 (100)	105 (100)	—	—
- T	12 (6.5)	5 (2.4)		12 (13.0)	5 (4.8)	0.070 ^b	3.0 (1.02-8.87)

PAI-1							
Total gene	184	290	0.375 ^b	92	145		
- 4G	102 (55.4)	174 (60.0)		72 (78.3)	124 (85.5)	0.207 ^b	0.61 (0.31-1.20)
- 5G	82 (44.6)	116 (40.0)		62 (67.4)	95 (65.5)	0.876 ^b	1.09 (0.63-1.89)
ENOS-promoter							
Total gene	184	288	< 0.001 ^b	92	144		
- 786C	16 (8.7)	146 (50.7)		16 (17.4)	107 (74.3)	< 0.001 ^b	0.07 (0.04-0.14)
- 786T	168 (91.3)	142 (49.3)		92 (100)	105 (72.9)	< 0.001 ^b	—
ENOS-intron4							
Total gene	184	200	0.824 ^b	92	100		
- a-deletion	18 (9.8)	22 (11.0)		18 (19.6)	21 (21.0)	0.946 ^b	0.92 (0.45-1.85)
-b-insertion	166 (90.2)	178 (89.0)		92 (100)	99 (99.0)	1.0 ^c	—
IL-Ra							
Total gene	184	206	0.209 ^a	92	103		
- I	172 (93.5)	196 (95.1)		91 (98.9)	101 (98.1)	1.0 ^c	1.80(0.16-20.21)
- II	12 (6.5)	8 (3.9)		11 (12.0)	7 (6.8)	0.320 ^b	1.86 (0.69-5.03)
- IV	0 (0.0)	2 (1.0)		0 (0.0)	1 (1.0)	1.0 ^c	—

a: Pearson Chi-square test; b: Yate's correction of contingency; c: Fisher's exact test

A. 發炎前驅激素之基因多型性與膜性腎病變病患相關性之研究結果：

Table 4. IL- β promoter genetic polymorphism and clinical data

	CC (n = 20)	TC (n = 53)	TT (n = 19)	P value
Gender (M/F)	10/10	27/26	12/7	0.623
Age of biopsy (yrs)	57.4 \pm 17.6	58.4 \pm 17.6	62.0 \pm 11.7	0.646
Follow-up period (yrs)	5.6 \pm 4.8	4.5 \pm 4.5	5.9 \pm 4.0	0.417
BMI (Kg/M ²)	24.7 \pm 3.4	24.7 \pm 3.7	24.7 \pm 3.3	0.998
MBP (mmHg)	98.3 \pm 10.3	98.8 \pm 13.3	100.5 \pm 18.5	0.864
Albumin (mg/dl)	2.5 \pm 0.7	2.6 \pm 0.6	2.5 \pm 0.6	0.858
Cholesterol (mg/dl)	325.2 \pm 135.5	328.6 \pm 113.0	388.4 \pm 172.7	0.207
Triglyceride (mg/dl)	264.5 \pm 175.5	227.7 \pm 173.8	170.8 \pm 67.0	0.182
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.7 \pm 0.4	1.2 \pm 0.0	1.3 \pm 0.2	0.334
DUP _{initial} (g/day)*	8.0 \pm 1.4	6.1 \pm 0.6	5.8 \pm 1.0	0.263
CCr _{initial} (ml/min)	84.4 \pm 49.3	87.2 \pm 39.7	86.3 \pm 40.0	0.969
Cr _{final} (mg/dl)*	2.2 \pm 0.4	1.9 \pm 0.3	2.4 \pm 0.6	0.577
DUP _{final} (g/day)*	3.4 \pm 1.1	2.6 \pm 0.4	2.1 \pm 0.7	0.575
CCr _{final} (ml/min)	52.1 \pm 35.9	64.1 \pm 39.7	60.8 \pm 35.6	0.484
Cardiovascular events	5 (25.0)	6 (11.3)	3 (15.8)	0.348
Peripheral vascular events	6 (30.0)	10 (18.9)	2 (10.5)	0.303
Macrovascular events	7 (35.0)	15 (28.3)	4 (21.1)	0.627
Hematuria	14 (70.0)	35 (66.0)	14 (73.7)	0.816
Lower leg edema	14 (70.0)	45 (84.9)	16 (84.2)	0.324
Proteiuria \geq 3.5 g/day	13 (65.0)	35 (66.0)	13 (68.4)	0.973
Malignancy	3 (15.0)	1 (1.9)	1 (5.3)	0.088
Complete remission	8 (40.0)	20 (37.7)	8 (42.1)	0.976
Disease progression	10 (50.0)	23 (43.4)	9 (47.4)	0.868

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, CCr_{final} are presented as Mean \pm SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean \pm SD (standard deviation)

Pearson Chi-square test, P<0.05

Table 5. IL- β promoter genetic polymorphism and pathological findings

	CC (n = 20)	TC (n = 53)	TT (n = 19)	P value
Stage				
I + II	4 (20.0)	9 (17.0)	2 (10.5)	0.746
III	15 (75.0)	41 (77.4)	17 (89.5)	
IV	1 (5.0)	3 (5.7)	0 (0.0)	
Globosclerosis				
No	10 (50.0)	22 (41.5)	6 (31.6)	0.427
$\leq 25\%$	4 (20.0)	21 (39.6)	9 (47.4)	
$>25\%$	6 (30.0)	10 (18.9)	4 (21.1)	
Tubulointerstitial fibrosis				
No	10 (50.0)	35 (66.0)	10 (52.6)	0.397
$\leq 25\%$	5 (25.0)	12 (22.6)	7 (36.8)	
$>25\%$	5 (25.0)	6 (11.4)	2 (10.5)	
Vascular fibrointimal hyperplasia				
No	9 (45.0)	36 (67.9)	14 (73.7)	0.270
$\leq 25\%$	7 (35.0)	13 (24.5)	4 (21.1)	
$>25\%$	4 (20.0)	4 (7.5)	1 (5.3)	

Table 6. IL-1 β promoter gene polymorphism with different response modality

	IL-1 β promoter gene polymorphism			P value
	C/C	T/C	T/T	
Observation				
None response	1 (100.0)	4 (66.7)	3 (75.0)	0.772
Partial response	0 (0.0)	1 (16.7)	1 (25.0)	
Complete response	0 (0.0)	1 (16.7)	0 (0.0)	
Prednisolone only				
None response	3 (33.3)	6 (31.6)	1 (10.0)	0.542
Partial response	3 (33.3)	6 (31.6)	6 (60.0)	
Complete response	3 (33.3)	7 (36.8)	3 (30.0)	
Italian protocol				
None response	4 (50.0)	2 (11.8)	2 (22.2)	0.142
Partial response	1 (12.5)	10 (58.8)	3 (33.3)	
Complete response	3 (37.5)	5 (29.4)	4 (44.4)	
Cyclosporine				
None response	0 (0.0)	6 (54.5)	1 (20.0)	0.093
Partial response	1 (25.0)	3 (27.3)	3 (60.0)	
Complete response	3 (45.0)	2 (18.2)	1 (20.0)	

Table 7. IL- β exon 5 genetic polymorphism and clinical data

	E1/E1 (n = 87)	E1/E2 (n = 5)	P value
Gender (M/F)	49/38	0/5	0.020
Age of biopsy (yrs)	58.7 \pm 16.3	63.5 \pm 19.2	0.521
Follow-up period (yrs)	5.0 \pm 4.6	6.1 \pm 2.0	0.568
BMI (Kg/M ²)	24.8 \pm 3.6	23.1 \pm 1.8	0.293
MBP (mmHg)	99.1 \pm 14.1	98.3 \pm 9.1	0.902
Albumin (mg/dl)	2.5 \pm 0.6	2.7 \pm 0.8	0.513
Cholesterol (mg/dl)	340.4 \pm 133.7	336.6 \pm 132.0	0.951
Triglyceride (mg/dl)	210.0 \pm 143.7	467.0 \pm 243.0	0.000
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.4 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.244
DUP _{initial} (g/day)*	6.5 \pm 0.5	6.2 \pm 2.0	0.907
CCr _{initial} (ml/min)	84.9 \pm 40.3	112.7 \pm 59.4	0.147
Cr _{final} (mg/dl)*	2.1 \pm 0.2	1.8 \pm 0.5	0.813
DUP _{final} (g/day)*	2.7 \pm 0.4	2.0 \pm 0.8	0.695
CCr _{final} (ml/min)	62.3 \pm 38.3	35.5 \pm 20.3	0.126
Cardiovascular events	14 (16.1)	0 (0.0)	0.330
Peripheral vascular events	18 (20.7)	0 (0.0)	0.257
Macrovascular events	26 (29.9)	0 (0.0)	0.149
Hematuria	60 (69.0)	3 (60.0)	0.675
Lower leg edema	72 (82.8)	31 (60.0)	0.202
Proteuria \geq 3.5 g/day	58 (66.7)	3 (60.0)	0.759
Malignancy	5 (5.7)	0 (0.0)	0.581
Complete remission	33 (37.9)	3 (60.0)	0.393
Disease progression	40 (46.0)	2 (40.0)	1.000

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean \pm SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean \pm SD (standard deviation)

Table 8. IL- β exon 5 genetic polymorphism and pathological findings

	E1/E1 (n = 87)	E1/E2 (n = 5)	P value
Stage			
I + II	15 (17.2)	0 (0.0)	0.503
III	68 (78.2)	5 (100.0)	
IV	4 (4.6)	0 (0.0)	
Globosclerosis			
No	38 (43.7)	0 (0.0)	0.153
$\leq 25\%$	31 (35.6)	3 (60.0)	
$>25\%$	18 (20.7)	2 (40.0)	
Tubulointerstitial fibrosis			
No	53 (60.9)	2 (40.0)	0.180
$\leq 25\%$	21 (24.1)	3 (60.0)	
$>25\%$	13 (14.9)	0 (0.0)	
Vascular fibrointimal hyperplasia			
No	57 (65.5)	2 (40.0)	0.189
$\leq 25\%$	21 (24.1)	3 (60.0)	
$>25\%$	9 (10.3)	0 (0.0)	

Table 9. IL-1 β exon 5 gene polymorphism with different response modality

	IL-1 β exon 5 gene polymorphism		P value
	E1/E1	E1/E2	
Observation			
None response	7 (77.8)	1 (50.0)	0.443
Partial response	1 (11.1)	1 (50.0)	
Complete response	1 (11.1)	0 (0.0)	
Prednisolone only			
None response	10 (27.0)	0 (0.0)	0.387
Partial response	14 (37.8)	1 (100.0)	
Complete response	13 (35.1)	0 (0.0)	
Italian protocol			
None response	7 (21.9)	1 (50.0)	0.317
Partial response	14 (43.8)	0 (0.0)	
Complete response	11 (34.4)	1 (50.0)	
Cyclosporine			
None response	6 (35.3)	1 (33.3)	0.171
Partial response	7 (41.2)	0 (0.0)	
Complete response	4 (23.5)	2 (66.7)	

Table 10. IL-1RA genetic polymorphism and clinical data

	I/I (n = 81)	I/II + II/II (n = 11)	P value
Gender (M/F)	46/35	3/8	0.066
Age of biopsy (yrs)	59.2 ± 16.2	56.7 ± 18.7	0.629
Follow-up period (yrs)	5.0 ± 4.3	5.5 ± 5.4	0.707
BMI (Kg/M ²)	24.7 ± 3.3	25.0 ± 5.1	0.766
MBP (mmHg)	97.8 ± 12.3	107.6 ± 21.0	0.027
Albumin (mg/dl)	2.5 ± 0.6	2.5 ± 0.6	0.874
Cholesterol (mg/dl)	337.7 ± 131.9	358.3 ± 145.0	0.633
Triglyceride (mg/dl)	224.9 ± 162.2	217.0 ± 147.9	0.879
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.4	0.491
DUP _{initial} (g/day)*	6.7 ± 0.5	4.8 ± 0.8	0.225
CCr _{initial} (ml/min)	87.9 ± 39.8	75.6 ± 53.9	0.360
Cr _{final} (mg/dl)*	2.0 ± 0.2	2.8 ± 1.3	0.198
DUP _{final} (g/day)*	2.9 ± 0.4	0.7 ± 0.3	0.063
CCr _{final} (ml/min)	61.7 ± 31.2	53.6 ± 45.4	0.528
Cardiovascular events	13 (16.0)	1 (9.1)	0.553
Peripheral vascular events	17 (21.0)	1 (9.1)	0.367
Macrovascular events	24 (29.6)	2 (18.2)	0.435
Hematuria	55 (67.9)	8 (72.7)	0.747
Lower leg edema	68 (84.0)	7 (63.6)	0.116
Proteuria ≥ 3.5 g/day	54 (66.7)	7 (63.6)	0.842
Malignancy	5 (6.2)	0 (0.0)	0.397
Complete remission	30 (37.0)	6 (54.5)	0.366
Disease progression	39 (48.1)	3 (27.3)	0.196

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean ± SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean ± SD (standard deviation)

Table 11. IL-1RA genetic polymorphism and pathological findings

	I/I (n = 81)	I/II + II/II (n = 11)	P value
Stage			
I + II	12 (14.8)	3 (27.3)	0.367
III	66 (81.5)	7 (63.6)	
IV	3 (3.7)	1 (9.1)	
Globosclerosis			
No	34 (42.0)	4 (36.4)	0.882
≤25%	30 (37.0)	4 (36.4)	
>25%	17 (21.0)	3 (27.3)	
Tubulointerstitial fibrosis			
No	46 (56.8)	9 (81.8)	0.269
≤25%	23 (28.4)	1 (9.1)	
>25%	12 (14.8)	1 (9.1)	
Vascular fibrointimal hyperplasia			
No	54 (66.7)	5 (45.5)	0.289
≤25%	19 (23.5)	5 (45.5)	
>25%	8 (9.9)	1 (9.1)	

Table 12. IL-1Ra gene polymorphism with different response modality

	IL-1Ra gene polymorphism		P value
	I/I	I/II + II/II	
Observation			
None response	7 (77.8)	1 (50.0)	0.111
Partial response	2 (22.2)	0 (0.0)	
Complete response	0 (0.0)	1 (50.0)	
Prednisolone only			
None response	10 (27.8)	0 (0.0)	0.105
Partial response	15 (41.7)	0 (0.0)	
Complete response	11 (30.6)	2 (100.0)	
Italian protocol			
None response	7 (22.6)	1 (33.3)	0.178
Partial response	14 (45.2)	0 (0.0)	
Complete response	10 (32.3)	2 (66.7)	
Cyclosporine			
None response	6 (31.6)	1 (100.0)	0.333
Partial response	7 (36.8)	0 (0.0)	
Complete response	6 (31.6)	0 (0.0)	

Table 13. TNF- α genetic polymorphism and clinical data

	A/A+A/G (n = 20)	G/G (n = 68)	P value
Gender (M/F)	10/10	36/32	0.982
Age of biopsy (yrs)	63.0 \pm 10.2	57.7 \pm 18.0	0.004
Follow-up period (yrs)	4.4 \pm 3.9	5.3 \pm 4.7	0.089
BMI (Kg/M ²)	24.0 \pm 3.4	24.0 \pm 3.5	0.668
MBP (mmHg)	101.2 \pm 12.5	98.9 \pm 14.3	0.373
Albumin (mg/dl)	2.6 \pm 0.6	2.5 \pm 0.6	0.294
Cholesterol (mg/dl)	307.6 \pm 101.8	350.3 \pm 139.1	0.116
Triglyceride (mg/dl)	237.4 \pm 219.7	219.6 \pm 140.5	0.060
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.3 \pm 0.1	1.3 \pm 1.1	0.322
DUP _{initial} (g/day)*	7.4 \pm 1.2	6.1 \pm 0.5	0.237
CCr _{initial} (ml/min)	80.6 \pm 37.0	88.0 \pm 42.6	0.799
Cr _{final} (mg/dl)*	2.2 \pm 0.5	2.1 \pm 0.3	0.979
DUP _{final} (g/day)*	3.3 \pm 0.8	2.6 \pm 0.5	0.730
CCr _{final} (ml/min)	56.7 \pm 32.7	61.7 \pm 40.1	0.291
Cardiovascular events	3 (15.0)	10 (14.7)	0.974
Peripheral vascular events	2 (10.0)	15 (22.1)	0.339
Macrovascular events	5 (25.0)	20 (29.4)	0.701
Hematuria	12 (60.0)	49 (72.1)	0.408
Lower leg edema	17 (85.0)	54 (79.4)	0.752
Proteiuria \geq 3.5 g/day	14 (70.0)	45 (66.2)	0.961
Malignancy	1 (5.0)	4 (5.9)	1.000
Complete remission	6 (30.0)	29 (42.6)	0.480
Disease progression	11 (55.0)	30 (44.1)	0.450

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean \pm SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean \pm SD (standard deviation)

Table 14. TNF- α genetic polymorphism and pathological findings

	A/A + A/G (n = 20)	G/G (n = 68)	P value
Stage			
I + II	5 (25.0)	8 (11.8)	0.221
III	15 (75.0)	56 (82.4)	
IV	0 (0.0)	4 (5.9)	
Globosclerosis			
No	7 (35.0)	31 (45.6)	0.499
≤25%	9 (45.0)	21 (30.9)	
>25%	4 (20.0)	16 (23.5)	
Tubulointerstitial fibrosis			
No	12 (60.0)	41 (60.3)	0.819
≤25%	6 (30.0)	17 (25.0)	
>25%	2 (10.0)	10 (14.7)	
Vascular fibrointimal hyperplasia			
No	14 (70.0)	42 (61.8)	0.893
≤25%	4 (20.0)	20 (29.4)	
>25%	2 (10.0)	6 (8.8)	

Table 15. TNFA gene polymorphism with different response modality

	TNFA gene polymorphism		P value
	A/A +A/G	G/G	
Observation			
None response	1 (33.3)	6 (85.7)	0.052
Partial response	2 (66.7)	0 (0.0)	
Complete response	0 (0.0)	1 (14.3)	
Prednisolone only			
None response	2 (18.2)	8 (29.6)	0.759
Partial response	5 (45.5)	10 (37.0)	
Complete response	4 (36.4)	9 (33.3)	
Italian protocol			
None response	2 (22.2)	6 (25.0)	0.612
Partial response	5 (55.6)	9 (37.5)	
Complete response	2 (22.2)	9 (37.5)	
Cyclosporine			
None response	1 (50.0)	6 (37.5)	0.643
Partial response	1 (50.0)	5 (31.3)	
Complete response	0 (0.0)	5 (31.3)	

Table 16. IL-2RB genetic polymorphism and clinical data

	C/C (n = 31)	T/C (n = 43)	T/T (n = 18)	P value
Gender (M/F)	13/18	24/19	12/6	0.222
Age of biopsy (yrs)	59.5 ± 17.8	58.4 ± 16.4	59.2 ± 14.7	0.961
Follow-up period (yrs)	5.0 ± 4.9	4.7 ± 3.9	5.7 ± 5.0	0.744
BMI (Kg/M ²)	24.7 ± 3.5	24.3 ± 3.5	25.7 ± 3.2	0.384
MBP (mmHg)	95.0 ± 12.3	103.3 ± 14.8	95.7 ± 11.2	0.019
Albumin (mg/dl)	2.5 ± 0.6	2.6 ± 0.7	2.6 ± 0.5	0.721
Cholesterol (mg/dl)	349.8 ± 139.1	336.7 ± 122.7	331.9 ± 151.0	0.880
Triglyceride (mg/dl)	243.4 ± 203.3	210.0 ± 129.2	224.0 ± 146.3	0.679
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.4 ± 0.3	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.2	0.841
DUP _{initial} (g/day)*	7.6 ± 0.9	5.8 ± 0.6	6.0 ± 1.3	0.233
CCr _{initial} (ml/min)	84.9 ± 46.8	83.1 ± 6.0	96.8 ± 37.4	0.492
Cr _{final} (mg/dl)*	1.8 ± 0.2	1.9 ± 0.3	2.8 ± 0.8	0.258
DUP _{final} (g/day)*	2.9 ± 0.7	2.8 ± 0.6	1.9 ± 0.6	0.643
CCr _{final} (ml/min)	54.7 ± 40.1	64.4 ± 37.0	63.1 ± 37.5	0.544
Cardiovascular events	6 (19.4)	2 (4.7)	6 (33.3)	0.013
Peripheral vascular events	5 (16.1)	10 (23.3)	3 (16.7)	0.704
Macrovascular events	9 (29.0)	11 (25.6)	6 (33.3)	0.823
Hematuria	21 (71.0)	28 (65.1)	13 (72.2)	0.806
Lower leg edema	23 (74.2)	35 (81.4)	17 (94.4)	0.212
Proteiuria ≥ 3.5 g/day	23 (74.2)	29 (67.4)	9 (50.0)	0.220
Malignancy	3 (9.7)	2 (4.7)	0 (0.0)	0.338
Complete remission	13 (41.9)	15 (34.9)	8 (44.4)	0.233
Disease progression	15 (48.4)	16 (37.2)	11 (61.1)	0.216

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean ± SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean ± SD (standard deviation)

Table 17. IL-2RB genetic polymorphism and pathological findings

	CC (n = 31)	TC (n = 43)	TT (n = 18)	P value
Stage				
I + II	6 (19.4)	5 (11.6)	4 (22.2)	0.666
III	23 (74.2)	37 (86.0)	13 (72.2)	
IV	2 (6.5)	1 (2.3)	1 (5.6)	
Globosclerosis				
No	11 (35.5)	19 (44.2)	8 (44.4)	0.713
≤25%	12 (38.7)	14 (32.6)	8 (44.4)	
>25%	8 (25.8)	10 (23.3)	2 (11.1)	
Tubulointerstitial fibrosis				
No	20 (64.5)	23 (53.4)	12 (66.7)	0.721
≤25%	6 (19.4)	14 (32.6)	4 (22.2)	
>25%	5 (16.1)	6 (14.0)	2 (11.1)	
Vascular fibrointimal hyperplasia				
No	17 (54.8)	29 (67.4)	13 (72.2)	0.280
≤25%	10 (32.3)	12 (27.9)	2 (11.1)	
>25%	4 (12.9)	2 (4.7)	3 (16.7)	

Table 18. IL-2R β gene polymorphism with different response modality

	IL-2R β gene polymorphism			P value
	C/C	T/C	T/T	
Observation				
None response	2 (66.7)	3 (100.0)	3 (60.0)	0.495
Partial response	1 (33.3)	0 (0.0)	1 (20.0)	
Complete response	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	
Prednisolone only				
None response	3 (25.0)	6 (27.3)	1 (25.0)	0.690
Partial response	3 (25.0)	10 (45.4)	2 (50.0)	
Complete response	6 (50.0)	6 (27.3)	1 (25.0)	
Italian protocol				
None response	4 (50.0)	1 (5.9)	3 (33.3)	0.067
Partial response	3 (37.5)	7 (41.2)	4 (44.4)	
Complete response	1 (12.5)	9 (52.9)	2 (22.2)	
Cyclosporine				
None response	0 (0.0)	5 (50.0)	2 (40.0)	0.006
Partial response	1 (20.0)	5 (50.0)	1 (20.0)	
Complete response	4 (80.0)	0 (0.0)	2 (40.0)	

B. 抗發炎激素之基因多型性與膜性腎病變病患相關性之研究結果：

Table 19. IL-4 promoter genetic polymorphism and clinical data

	C/T (n = 31)	T/T (n = 61)	P value
Gender (M/F)	14/17	35/26	0.280
Age of biopsy (yrs)	58.9 ± 15.7	59.0 ± 16.9	0.974
Follow-up period (yrs)	5.4 ± 4.5	4.8 ± 4.5	0.546
BMI (Kg/M ²)	25.5 ± 4.2	24.3 ± 3.1	0.109
MBP (mmHg)	97.5 ± 11.4	99.8 ± 14.9	0.446
Albumin (mg/dl)	2.5 ± 0.6	2.6 ± 0.6	0.853
Cholesterol (mg/dl)	319.7 ± 107.8	350.6 ± 143.6	0.295
Triglyceride (mg/dl)	249.0 ± 191.6	211.2 ± 141.1	0.287
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.4 ± 0.3	1.3 ± 0.1	0.588
DUP _{initial} (g/day)*	6.5 ± 0.8	6.4 ± 0.6	0.898
CCr _{initial} (ml/min)	83.0 ± 36.1	88.1 ± 44.3	0.583
Cr _{final} (mg/dl)*	2.1 ± 0.4	2.0 ± 0.3	0.972
DUP _{final} (g/day)*	2.5 ± 0.5	2.8 ± 0.5	0.717
CCr _{final} (ml/min)	63.5 ± 37.7	59.4 ± 38.4	0.627
Cardiovascular events	7 (22.6)	7 (11.5)	0.220
Peripheral vascular events	3 (9.7)	15 (25.4)	0.088
Macrovascular events	8 (25.8)	18 (29.5)	0.809
Hematuria	18 (58.1)	45 (73.8)	0.156
Lower leg edema	30 (96.8)	45 (73.8)	0.009
Proteinuria ≥ 3.5 g/day	21 (67.7)	40 (65.6)	1.000
Malignancy	2 (6.5)	3 (4.9)	0.759
Complete remission	10 (32.3)	26 (42.6)	0.572
Disease progression	18 (58.1)	24 (39.3)	0.121

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean ± SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean ± SD (standard deviation)

Table 20. IL-4 promoter genetic polymorphism and clinical data

	C/T (n = 31)	T/T (n = 61)	P value
Stage			
I + II	5 (16.1)	10 (16.4)	0.930
III	25 (80.6)	48 (78.7)	
IV	1 (3.2)	3 (4.9)	
Globosclerosis			
No	9 (29.0)	29 (47.5)	0.233
≤25%	14 (45.2)	20 (32.8)	
>25%	8 (25.8)	12 (19.7)	
Tubulointerstitial fibrosis			
No	18 (58.1)	37 (60.7)	0.925
≤25%	8 (25.8)	16 (26.2)	
>25%	5 (16.1)	8 (13.1)	
Vascular fibrointimal hyperplasia			
No	20 (64.5)	39 (63.9)	0.998
≤25%	8 (25.8)	16 (26.2)	
>25%	3 (9.7)	6 (9.9)	

Table 21. IL-4 promoter gene polymorphism with different response modality

	IL-4 promoter gene polymorphism		P value
	C/T	T/T	
Observation			
None response	3 (75.0)	5 (71.4)	0.588
Partial response	1 (25.0)	1 (14.3)	
Complete response	0 (0.0)	1 (14.3)	
Prednisolone only			
None response	3 (23.1)	7 (28.0)	0.400
Partial response	7 (53.8)	8 (32.0)	
Complete response	3 (23.1)	10 (40.0)	
Italian protocol			
None response	2 (15.4)	6 (28.6)	0.509
Partial response	5 (38.5)	9 (42.9)	
Complete response	6 (46.2)	6 (28.6)	
Cyclosporine			
None response	1 (20.0)	6 (40.0)	0.410
Partial response	3 (60.0)	4 (26.7)	
Complete response	1 (20.0)	5 (33.3)	

Table 22. IL-4 intron 3 genetic polymorphism and clinical data

	RP1/ RP1 (n = 62)	RP1/ RP2 (n = 30)	P value
Gender (M/F)	36/26	13/17	0.265
Age of biopsy (yrs)	58.6 ± 16.8	59.7 ± 15.7	0.757
Follow-up period (yrs)	4.8 ± 4.4	5.4 ± 4.6	0.568
BMI (Kg/M ²)	24.1 ± 3.0	25.8 ± 4.1	0.028
MBP (mmHg)	99.5 ± 15.0	98.0 ± 11.3	0.627
Albumin (mg/dl)	2.6 ± 0.6	2.5 ± 0.6	0.698
Cholesterol (mg/dl)	356.2 ± 144.8	307.1 ± 97.8	0.097
Triglyceride (mg/dl)	218.3 ± 143.0	235.7 ± 192.2	0.628
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.3 ± 0.1	1.4 ± 0.3	0.528
DUP _{initial} (g/day)*	6.7 ± 0.6	6.0 ± 0.8	0.553
CCr _{initial} (ml/min)	87.9 ± 44.0	83.4 ± 36.4	0.633
Cr _{final} (mg/dl)*	2.0 ± 0.3	2.1 ± 0.4	0.941
DUP _{final} (g/day)*	2.7 ± 0.5	2.5 ± 0.6	0.784
CCr _{final} (ml/min)	59.5 ± 37.9	63.6 ± 38.7	0.632
Cardiovascular events	7 (11.3)	7 (23.3)	0.214
Peripheral vascular events	15 (24.2)	3 (10.0)	0.108
Macrovascular events	18 (29.0)	8 (26.7)	0.813
Hematuria	46 (74.2)	17 (56.7)	0.100
Lower leg edema	46 (74.2)	29 (96.7)	0.009
Proteiuria ≥ 3.5 g/day	42 (67.7)	19 (63.3)	0.814
Malignancy	3 (4.8)	2 (6.7)	0.717
Complete remission	25 (40.3)	11 (36.7)	0.911
Disease progression	24 (38.7)	18 (60.0)	0.074

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean ± SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean ± SD (standard deviation)

Table 23. IL-4 intron 3 genetic polymorphism and pathological findings

	RP1/ RP1 (n = 62)	RP1/ RP2 (n = 30)	P value
Stage			
I + II	9 (14.5)	6 (20.0)	0.772
III	50 (80.6)	23 (76.7)	
IV	3 (4.8)	1 (3.3)	
Globosclerosis			
No	29 (46.8)	9 (30.0)	0.307
≤25%	21 (33.9)	13 (43.3)	
>25%	12 (19.4)	8 (26.7)	
Tubulointerstitial fibrosis			
No	37 (59.7)	18 (60.0)	0.847
≤25%	17 (27.4)	7 (23.3)	
>25%	8 (12.9)	5 (16.7)	
Vascular fibrointimal hyperplasia			
No	40 (64.5)	19 (63.3)	0.994
≤25%	16 (25.8)	8 (26.7)	
>25%	6 (9.7)	3 (10.0)	

Table 24. IL-4 Intron 3 gene polymorphism with different response modality

	IL-4 Intron 3 gene polymorphism		P value
	RP1/RP1	RP2/RP2	
Observation			
None response	5 (71.4)	3 (75.0)	0.588
Partial response	1 (14.3)	1 (25.0)	
Complete response	1 (14.3)	0 (0.0)	
Prednisolone only			
None response	7 (26.9)	3 (25.0)	0.625
Partial response	9 (34.6)	6 (50.0)	
Complete response	10 (38.5)	3 (25.0)	
Italian protocol			
None response	6 (28.6)	2 (15.4)	0.509
Partial response	9 (42.9)	5 (38.5)	
Complete response	6 (28.6)	6 (46.2)	
Cyclosporine			
None response	6 (37.5)	1 (25.0)	0.782
Partial response	5 (31.3)	2 (50.0)	
Complete response	5 (31.3)	1 (25.0)	

Table 25. IL-10 genetic polymorphism and clinical data

	AA (n = 52)	CA (n = 30)	CC (n = 10)	P value
Gender (M/F)	25/27	17/13	7/3	0.401
Age of biopsy (yrs)	58.8 ± 15.3	58.2 ± 19.6	62.2 ± 11.7	0.799
Follow-up period (yrs)	5.0 ± 4.3	5.2 ± 4.7	4.3 ± 5.1	0.866
BMI (Kg/M ²)	24.7 ± 3.8	24.8 ± 3.2	24.2 ± 2.6	0.898
MBP (mmHg)	99.0 ± 14.7	99.3 ± 11.7	98.4 ± 16.4	0.983
Albumin (mg/dl)	2.5 ± 0.6	2.7 ± 0.7	2.4 ± 0.3	0.181
Cholesterol (mg/dl)	352.9 ± 146.8	316.0 ± 95.8	346.7 ± 154.1	0.478
Triglyceride (mg/dl)	225.9 ± 151.9	208.1 ± 165.8	261.3 ± 191.5	0.659
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.4 ± 0.2	1.1 ± 0.0	1.7 ± 0.3	0.351
DUP _{initial} (g/day)*	6.3 ± 0.7	6.6 ± 0.8	7.0 ± 1.6	0.899
CCr _{initial} (ml/min)	82.5 ± 32.8	91.7 ± 42.5	91.1 ± 61.2	0.587
Cr _{final} (mg/dl)*	2.2 ± 0.3	1.5 ± 0.1	2.9 ± 1.2	0.100
DUP _{final} (g/day)*	2.6 ± 0.5	2.7 ± 0.7	2.8 ± 0.9	0.984
CCr _{final} (ml/min)	59.9 ± 39.9	65.5 ± 37.5	51.4 ± 29.9	0.583
Cardiovascular events	9 (17.3)	4 (13.3)	1 (10.0)	0.791
Peripheral vascular events	6 (11.5)	8 (26.7)	4 (40.0)	0.057
Macrovascular events	13 (25.0)	9 (30.0)	4 (40.0)	0.607
Hematuria	35 (67.3)	19 (63.3)	9 (90.0)	0.280
Lower leg edema	45 (86.5)	20 (66.7)	10 (100.0)	0.023
Proteiuria ≥ 3.5 g/day	34 (65.4)	20 (66.7)	7 (70.0)	0.960
Malignancy	3 (5.8)	1 (3.3)	1 (10.0)	0.714
Complete remission	20 (38.5)	13 (4.3)	3 (30.0)	0.603
Disease progression	26 (50.0)	11 (36.7)	5 (50.0)	0.485

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean ± SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean ± SD (standard deviation)

Table 26. IL-10 genetic polymorphism and pathological findings

	AA (n = 52)	CA (n = 30)	CC (n = 10)	P value
Stage				
I + II	4 (7.7)	10 (33.3)	1 (10.0)	0.036
III	46 (88.5)	19 (63.3)	8 (80.0)	
IV	2 (3.8)	1 (3.3)	1 (10.0)	
Globosclerosis				
No	18 (34.6)	15 (50.0)	5 (50.0)	0.543
≤25%	20 (38.5)	10 (33.3)	4 (40.0)	
>25%	14 (26.9)	5 (16.7)	1 (10.0)	
Tubulointerstitial fibrosis				
No	29 (55.8)	21 (70.0)	5 (50.0)	0.624
≤25%	16 (30.8)	5 (16.7)	3 (30.0)	
>25%	7 (13.5)	4 (13.3)	2 (20.0)	
Vascular fibrointimal hyperplasia				
No	35 (67.3)	20 (66.7)	4 (40.0)	0.142
≤25%	12 (23.1)	9 (30.0)	3 (30.0)	
>25%	5 (9.6)	1 (3.3)	3 (30.0)	

Table 27. IL-10 gene polymorphism with different response modality

	IL-10 gene polymorphism			P value
	A/A	A/C	C/C	
Observation				
None response	4 (100.0)	2 (50.0)	2 (66.7)	0.334
Partial response	0 (0.0)	1 (25.0)	1 (33.3)	
Complete response	0 (0.0)	1 (25.0)	0 (0.0)	
Prednisolone only				
None response	5 (22.7)	3 (25.0)	2 (50.0)	0.409
Partial response	8 (36.4)	5 (41.7)	2 (50.0)	
Complete response	9 (40.9)	4 (33.3)	0 (0.0)	
Italian protocol				
None response	5 (26.3)	2 (25.0)	1 (14.3)	0.420
Partial response	7 (36.8)	2 (25.0)	5 (71.4)	
Complete response	7 (55.9)	4 (50.0)	1 (14.3)	
Cyclosporine				
None response	5 (38.5)	1 (25.0)	1 (50.0)	0.716
Partial response	4 (30.8)	1 (25.0)	1 (50.0)	
Complete response	4 (30.8)	2 (50.0)	0 (0.0)	

Table 28. eNOS promoter genetic polymorphism and clinical data

	C/T (n = 15)	T/T (n = 77)	P value
Gender (M/F)	6/9	43/34	0.276
Age of biopsy (yrs)	61.2 ± 10.9	58.5 ± 17.3	0.064
Follow-up period (yrs)	5.3 ± 4.8	5.0 ± 4.4	0.280
BMI (Kg/M ²)	24.8 ± 2.9	24.7 ± 3.6	0.288
MBP (mmHg)	99.4 ± 15.3	98.9 ± 13.6	0.386
Albumin (mg/dl)	2.9 ± 0.4	2.5 ± 0.6	0.106
Cholesterol (mg/dl)	325.0 ± 117.2	343.1 ± 136.2	0.725
Triglyceride (mg/dl)	220.4 ± 149.6	224.7 ± 162.7	0.428
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.1 ± 0.1	1.4 ± 0.1	0.322
DUP _{initial} (g/day)*	5.3 ± 1.1	6.7 ± 0.6	0.237
CCr _{initial} (ml/min)	91.4 ± 38.5	85.4 ± 42.3	0.799
Cr _{final} (mg/dl)*	1.9 ± 0.5	2.1 ± 0.2	0.680
DUP _{final} (g/day)*	1.5 ± 0.7	2.9 ± 0.4	0.187
CCr _{final} (ml/min)	53.8 ± 36.1	62.2 ± 38.5	0.773
Cardiovascular events	0 (0.0)	14 (18.2)	0.115
Peripheral vascular events	3 (20.0)	15 (19.5)	0.963
Macrovascular events	3 (20.0)	23 (29.9)	0.543
Hematuria	12 (80.0)	51 (66.2)	0.374
Lower leg edema	10 (66.7)	65 (84.4)	0.143
Proteuria ≥ 3.5 g/day	8 (53.3)	53 (68.8)	0.251
Malignancy	1 (6.7)	4 (5.2)	0.818
Complete remission	6 (40.0)	30 (39.0)	0.307
Disease progression	6 (40.0)	36 (46.8)	0.779

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean ± SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean ± SD (standard deviation)

Table 29. eNOS promoter genetic polymorphism and pathological findings

	C/T (n = 15)	T/T (n = 77)	P value
Stage			
I + II	4 (26.7)	11 (14.3)	0.414
I	10 (66.7)	63 (81.8)	
IV	1 (6.7)	3 (3.9)	
Globosclerosis			
No	8 (53.3)	30 (39.0)	0.329
≤25%	3 (20.0)	31 (40.3)	
>25%	4 (26.7)	16 (20.8)	
Tubulointerstitial fibrosis			
No	8 (53.3)	47 (61.0)	0.754
≤25%	4 (26.7)	20 (26.0)	
>25%	3 (20.0)	10 (13.0)	
Vascular fibrointimal hyperplasia			
No	10 (66.7)	49 (63.6)	0.906
≤25%	4 (26.7)	20 (26.0)	
>25%	1 (6.7)	8 (10.4)	

Table 30. eNOS promoter gene polymorphism with different response modality

	eNOS promoter gene polymorphism		P value
	C/T	T/T	
Observation			
None response	1 (100.0)	7 (70.0)	0.814
Partial response	0 (0.0)	2 (20.0)	
Complete response	0 (0.0)	1 (10.0)	
Prednisolone only			
None response	2 (40.0)	8 (24.2)	0.224
Partial response	3 (60.0)	12 (36.4)	
Complete response	0 (0.0)	13 (39.4)	
Italian protocol			
None response	0 (0.0)	8 (25.8)	0.419
Partial response	1 (33.3)	13 (41.9)	
Complete response	2 (66.7)	10 (32.3)	
Cyclosporine			
None response	1 (50.0)	6 (33.3)	0.621
Partial response	1 (50.0)	6 (33.3)	
Complete response	0 (0.0)	6 (33.3)	

Table 31. eNOS intron 4 genetic polymorphism and clinical data

	a-deletion/a-deletion (n = 18)	a-deletion/b-insertion (n = 74)	P value
Gender (M/F)	9/9	40/34	0.797
Age of biopsy (yrs)	61.3 ± 13.4	58.4 ± 17.1	0.253
Follow-up period (yrs)	5.5 ± 4.4	4.9 ± 4.5	0.833
BMI (Kg/M ²)	24.4 ± 2.7	24.8 ± 3.7	0.105
MBP (mmHg)	99.3 ± 15.2	98.9 ± 13.6	0.257
Albumin (mg/dl)	2.7 ± 0.7	2.5 ± 0.6	0.591
Cholesterol (mg/dl)	344.0 ± 126.9	339.3 ± 135.1	0.659
Triglyceride (mg/dl)	229.6 ± 163.2	222.6 ± 160.1	0.509
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.2 ± 0.1	1.4 ± 0.1	0.284
DUP _{initial} (g/day)*	6.5 ± 1.0	6.4 ± 0.6	0.772
CCr _{initial} (ml/min)	81.1 ± 27.8	87.7 ± 44.3	0.059
Cr _{final} (mg/dl)*	2.0 ± 0.5	2.1 ± 0.2	0.976
DUP _{final} (g/day)*	2.4 ± 0.9	2.7 ± 0.4	0.872
CCr _{final} (ml/min)	62.0 ± 37.4	60.5 ± 38.4	0.639
Cardiovascular events	1 (5.6)	13 (17.6)	0.288
Peripheral vascular events	4 (22.2)	14 (18.9)	0.747
Macrovascular events	4 (22.2)	22 (29.7)	0.771
Hematuria	15 (83.3)	48 (64.9)	0.164
Lower leg edema	13 (72.2)	62 (83.8)	0.311
Proteuria ≥ 3.5 g/day	13 (72.2)	48 (64.9)	0.782
Malignancy	1 (5.6)	4 (5.4)	1.000
Complete remission	7 (38.9)	29 (39.5)	0.056
Disease progression	7 (38.9)	37 (50.0)	0.441

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean ± SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean ± SD (standard deviation)

Table 32. eNOS intron 4 genetic polymorphism and pathological findings

	a-deletion/b-insertion b-insertion / b-insertion		P value
	(n = 18)	(n = 74)	
Stage			
I + II	1 (5.6)	14 (18.9)	0.383
III	16 (88.9)	57 (77.0)	
IV	1 (5.6)	3 (4.1)	
Globosclerosis			
No	8 (44.4)	30 (40.5)	0.935
≤25%	6 (33.3)	28 (37.8)	
>25%	4 (22.2)	16 (21.6)	
Tubulointerstitial fibrosis			
No	9 (50.0)	46 (62.2)	0.492
≤25%	5 (27.8)	19 (25.7)	
>25%	4 (19.6)	9 (12.2)	
Vascular fibrointimal hyperplasia			
No	12 (66.7)	47 (63.5)	0.796
≤25%	5 (27.8)	19 (25.7)	
>25%	6 (5.6)	8 (10.8)	

Table 33. eNOS intron 4 gene polymorphism with different response modality

	eNOS intron 4 gene polymorphism		P value
	a-deletion/b-insertion	b-insertion /b-insertion	
Observation			
None response	1 (100.0)	7 (70.0)	0.814
Partial response	0 (0.0)	2 (20.0)	
Complete response	0 (0.0)	1 (10.0)	
Prednisolone only			
None response	2 (28.6)	8 (25.8)	0.941
Partial response	3 (42.9)	12 (38.7)	
Complete response	2 (28.6)	11 (35.5)	
Italian protocol			
None response	1 (14.3)	7 (25.9)	0.791
Partial response	3 (42.9)	11 (40.7)	
Complete response	3 (42.9)	9 (33.3)	
Cyclosporine			
None response	2 (50.0)	5 (31.3)	0.343
Partial response	2 (50.0)	5 (31.3)	
Complete response	0 (0.0)	6 (37.3)	

Table 34. PAI-1 genetic polymorphism and clinical data

	4G4G (n = 30)	4G5G (n = 41)	5G5G (n = 21)	P value
Gender (M/F)	16/14	23/18	10/11	0.818
Age of biopsy (yrs)	60.0 ± 16.1	58.8 ± 18.0	57.7 ± 13.9	0.883
Follow-up period (yrs)	5.3 ± 5.0	5.4 ± 4.8	3.8 ± 2.8	0.341
BMI (Kg/M ²)	25.0 ± 3.8	24.7 ± 3.8	24.3 ± 3.1	0.792
MBP (mmHg)	97.3 ± 13.4	100.7 ± 11.3	98.3 ± 18.5	0.579
Albumin (mg/dl)	2.5 ± 0.6	2.5 ± 0.6	2.8 ± 0.5	0.117
Cholesterol (mg/dl)	337.5 ± 106.2	356.1 ± 161.7	312.8 ± 101.8	0.478
Triglyceride (mg/dl)	231.3 ± 138.1	201.9 ± 127.2	256.6 ± 232.4	0.428
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.2	1.2 ± 0.2	0.705
DUP _{initial} (g/day)*	7.1 ± 0.9	6.3 ± 0.8	5.6 ± 0.9	0.513
CCr _{initial} (ml/min)	82.0 ± 46.8	86.5 ± 39.6	92.5 ± 38.4	0.678
Cr _{final} (mg/dl)*	2.5 ± 0.5	2.1 ± 0.3	1.3 ± 0.1	0.110
DUP _{final} (g/day)*	3.2 ± 0.7	2.8 ± 0.6	1.7 ± 0.7	0.362
CCr _{final} (ml/min)	52.1 ± 32.3	62.4 ± 42.5	70.6 ± 34.9	0.225
Cardiovascular events	3 (10.0)	10 (24.4)	1 (4.8)	0.079
Peripheral vascular events	6 (20.0)	9 (22.0)	3 (14.3)	0.770
Macrovascular events	7 (23.3)	16 (39.0)	3 (14.3)	0.094
Hematuria	19 (63.3)	29 (70.7)	15 (71.4)	0.760
Lower leg edema	27 (90.0)	34 (82.9)	14 (66.7)	0.102
Proteinuria ≥ 3.5 g/day	23 (76.7)	25 (61.0)	13 (61.9)	0.342
Malignancy	2 (6.7)	2 (4.9)	1 (4.8)	0.936
Complete remission	10 (33.3)	16 (39.0)	10 (47.6)	0.365
Disease progression	19 (63.3)	19 (46.3)	4 (19.0)	0.008

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean ± SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean ± SD (standard deviation)

Table 35. PAI-1 genetic polymorphism and pathological findings

	4G4G (n = 30)	4G5G (n = 41)	5G5G (n = 21)	P value
Stage				
I + II	2 (6.7)	8 (19.5)	5 (23.8)	0.366
III	26 (86.7)	31 (75.6)	16 (76.2)	
IV	2 (6.7)	2 (4.9)	0 (0.0)	
Globosclerosis				
No	12 (40.0)	17 (41.5)	9 (42.9)	0.596
≤25%	10 (33.3)	14 (34.1)	10 (47.6)	
>25%	8 (26.7)	10 (24.4)	2 (9.5)	
Tubulointerstitial fibrosis				
No	17 (56.7)	23 (56.1)	15 (71.4)	0.669
≤25%	8 (26.7)	11 (26.8)	5 (26.8)	
>25%	5 (16.7)	7 (17.1)	1 (4.8)	
Vascular fibrointimal hyperplasia				
No	17 (56.7)	28 (68.3)	14 (66.7)	0.643
≤25%	10 (33.3)	8 (19.5)	6 (28.6)	
>25%	3 (10.0)	5 (12.2)	1 (4.8)	

Table36. PAI-1 gene polymorphism with different response modality

	PAI-1 gene polymorphism			P value
	4G4G	4G5G	5G5G	
Observation				
None response	4 (66.7)	3 (75.0)	1 (100.0)	0.334
Partial response	2 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Complete response	0 (0.0)	1 (25.0)	0 (0.0)	
Prednisolone only				
None response	3 (21.4)	6 (35.3)	1 (14.3)	0.699
Partial response	7 (50.0)	5 (29.4)	3 (42.9)	
Complete response	4 (28.6)	6 (35.3)	3 (42.9)	
Italian protocol				
None response	4 (30.8)	3 (18.8)	1 (20.0)	0.818
Partial response	6 (46.2)	6 (37.5)	2 (40.0)	
Complete response	3 (23.1)	7 (43.8)	2 (40.0)	
Cyclosporine				
None response	4 (44.4)	2 (25.0)	1 (33.3)	0.254
Partial response	4 (44.4)	3 (37.5)	0 (0.0)	
Complete response	1 (11.1)	3 (37.5)	2 (66.7)	

Table 37. Urokinase genetic polymorphism and clinical data

	C/T (n = 80)	T/T (n = 12)	P value
Gender (M/F)	39/41	10/2	0.031
Age of biopsy (yrs)	60.7 ± 15.3	47.2 ± 19.4	0.007
Follow-up period (yrs)	5.4 ± 4.6	2.6 ± 2.0	0.040
BMI (Kg/M ²)	24.7 ± 3.5	25.0 ± 3.8	0.749
MBP (mmHg)	99.1 ± 12.3	98.2 ± 22.2	0.827
Albumin (mg/dl)	2.5 ± 0.6	2.6 ± 0.8	0.704
Cholesterol (mg/dl)	349.7 ± 134.6	276.6 ± 103.8	0.075
Triglyceride (mg/dl)	222.2 ± 157.4	235.8 ± 181.9	0.786
Cr _{initial} (mg/dl)*	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.3	0.477
DUP _{initial} (g/day)*	6.3 ± 0.5	7.5 ± 1.6	0.420
CCr _{initial} (ml/min)	85.8 ± 40.1	90.3 ± 52.0	0.732
Cr _{final} (mg/dl)*	2.1 ± 0.2	2.0 ± 0.4	0.879
DUP _{final} (g/day)*	2.6 ± 0.4	3.2 ± 1.5	0.633
CCr _{final} (ml/min)	58.8 ± 37.1	75.6 ± 42.9	0.171
Cardiovascular events	12 (15.0)	2 (16.7)	0.881
Peripheral vascular events	15 (18.8)	3 (25.0)	0.611
Macrovascular events	23 (28.8)	3 (25.0)	0.788
Hematuria	54 (67.5)	9 (75.0)	0.602
Lower leg edema	67 (83.8)	8 (66.7)	0.155
Proteuria ≥ 3.5 g/day	53 (66.3)	8 (66.7)	1.000
Malignancy	5 (6.3)	0 (0.0)	0.373
Complete remission	32 (40.0)	4 (33.3)	0.712
Disease progression	38 (47.5)	4 (33.3)	0.536

BMI: body mass index; MBP: mean blood pressure; DUP: daily urinary protein excretion; CCr: creatinine clearance

* Cr_{initial}, DUP_{initial}, Cr_{final}, DUP_{final} are presented as Mean ± SEM (standard error of mean); the others are presented as Mean ± SD (standard deviation)

Table 38. Urokinase genetic polymorphism and pathological findings

	C/T (n = 80)	T/T (n = 12)	P value
Stage			
I + II	14 (17.5)	1 (8.3)	0.496
III	62 (77.5)	11 (91.7)	
IV	4 (5.0)	0 (0.0)	
Globosclerosis			
No	32 (40.0)	6 (50.0)	0.478
≤25%	29 (36.3)	5 (41.7)	
>25%	19 (23.8)	1 (8.3)	
Tubulointerstitial fibrosis			
No	46 (57.5)	9 (75.0)	0.514
≤25%	22 (27.5)	2 (16.7)	
>25%	12 (15.0)	1 (8.3)	
Vascular fibrointimal hyperplasia			
No	52 (65.0)	7 (58.3)	0.827
≤25%	20 (25.0)	4 (33.3)	
>25%	8 (10.0)	1 (8.3)	

Table 39. Urokinase gene polymorphism with different response modality

	Urokinase gene polymorphism		P value
	C/T	C/C	
Observation			
None response	1 (100.0)	7 (70.0)	0.814
Partial response	0 (0.0)	2 (20.0)	
Complete response	0 (0.0)	1 (10.0)	
Prednisolone only			
None response	2 (33.3)	8 (25.0)	0.903
Partial response	2 (33.3)	13 (45.6)	
Complete response	2 (33.3)	11 (34.4)	
Italian protocol			
None response	0 (0.0)	8 (26.7)	0.292
Partial response	3 (75.0)	11 (36.7)	
Complete response	1 (25.0)	11 (36.7)	
Cyclosporine			
None response	1 (50.0)	6 (33.3)	0.621
Partial response	1 (50.0)	6 (33.3)	
Complete response	0 (0.0)	6 (33.3)	

第九章 參考文獻

1. Haas M, Meehan SM, Karrison TG, Spargo BH: Changing etiologies of unexplained adult nephrotic syndrome: a comparison of renal biopsy findings from 1976-1979 and 1995-1997. *Am J Kidney Dis* 1997;30(5): 621-31.
2. US RENAL DATA SYSTEM: *USRDS 1999 Annual Data Report*. The National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease, Bethesda, 1999.
3. Schieppati A, Mosconi L, Perna A, Mecca G, Bertani T, Garattini S, Remuzzi G: Prognosis of untreated patients with idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*. 1993 Jul 8;329(2):85-9.
4. Glasscock RJ. Membranous glomerulopathy. In: Massry SG, Glasscock RJ, eds. *Textbook of Nephrology*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1984, 6.42-6.46.
5. Zollinger HU, Mihatsch MJ. Epimembranous glomerulonephritis. In: *Renal pathology in biopsy*. Berlin, Springer-Verlag, 1978; 261-278.
6. Short CD, Mallick NP. Membranous Nephropathy. In: Schrier RW, Gottschalk CW, eds. *Disease of the kidney*. Boston, Little-Brown, 1997; 1693-1723.
7. Preston RA, Stemmer CL, Materson BJ, Perez-stable-E Pardov. Renal biopsy in patients 65 years of age or older- An analysis of the results of 334 biopsies. *J Am Geriatr Soc* 1990; 38: 669-674.
8. Mallick NP, Short CD, Manos J: Clinical membranous nephropathy. *Nephron*. 1983; 34:209-219.
9. Takekoshi Y, Tanaka M, Shida N et al. Strong association between membranous nephropathy and hepatitis B surface antigenemia in Japanese children. *The Lancet* 1978; 18:1065-1068.
10. Hsu HC, Lin GH, Chang MH et al. Association of hepatitis B surface antigenemia and membranous nephropathy in children in Taiwan. *Clin Nephrol* 1983;20:121-129.
11. Zucchelli P, Pasquali S. Membranous nephropathy. In: Cameron S, Davison AM, Grunefeld JP, Kerr D, Ritz E eds. *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*. London, Oxford Medical Publications, 1992; 370-385.
12. Ehrenreich T, Churg J. Pathology of membranous nephropathy. In Sommers SC, ed. *Pathology Annual*. New York, Appleton-Century-Crofts, 1968; 145-186.
13. Olbing H, Greifer I, Bennett BP, Bernstein J, Spitzer A. Idiopathic membranous nephropathy in children. *Kidney International* 1973; 3: 381-90.
14. Davison A.M, Cameron JS, Kerr DNS, Ogg CS, Wilkinson RW. The natural history of renal function in untreated idiopathic membranous glomerulonephritis in adult. *Clinical Nephrology* 1984; 22, 61-66.

15. Cattran DC, Pei Y, Greenwood C: Predicting progression in membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1992;7 Suppl 1:48-52.
16. Schieppati A.: Prognosis of untreated patients with idiopathic membranous nephropathy. *NEJM* 1993; 329, 85-88.
17. Zucchelli P, Ponticelli C, Cagnoli L, Passerini P: Long-term outcome of idiopathic membranous nephropathy with the nephrotic syndrome. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 1987; 2, 73-9.
18. Hopper J, Trew PA, Biava CG: Membranous nephropathy: the relative benignity in women. *Nephron* 1981; 29:18-24.
19. Donadio JV et al: Idiopathic membranous nephropathy: the natural history of untreated patients. *Kidney International* 1988;33, 708-715.
20. Erwin DT, Donadio JV, Holley KE: The clinical course of idiopathic membranous nephropathy. *Mayo Clinic Proceedings* 1973; 48: 697-712.
21. Mallick NP, Short CD, Manos J: Clinical membranous nephropathy. *Nephron* 1983; 34:209-219.
22. Row PG et al: Membranous nephropathy. *Quarterly Journal of Medicine* 1975, 44, 207-209.
23. Tu WH, Petitti DB, Biava CG, Tulunay O, Hopper J: Membranous nephropathy: predictors of terminal renal failure. *Nephron* 1984;36:118-124.
24. Murphy BF, Fairley KF, Kincaid-Smith PJ: Idiopathic membranous glomerulonephritis: long-term follow-up in 139 cases. *Clinical Nephrology* 1988; 30, 175-186.
25. Honkanen E, Tornroth T, Gronhagen-Riska C, Sankila R: Long-term survival in idiopathic membranous glomerulonephritis: can the course be clinically predicted? *Clinical Nephrology* 1994;41:127-134.
26. Cameron JS: Pathogenesis and treatment of membranous nephropathy. *Kidney International* 1979;15: 88-93.
27. Wehrmann et al: Long-term prognosis of chronic idiopathic membranous glomerulonephritis. An analysis of 334 cases with particular regard to tubulo-interstitial changes. *Clinical Nephrology* 1989;31: 67-76.
28. Noel LH, Zanetti M, Droz D, Barbanel C: Long-term prognosis of idiopathic membranous glomerulonephritis. *American Journal of Medicine* 1979; 66,82-90.
29. Abe S, Amagasaki Y, Konishi K, Kato E, Iyori S, Sakaguchi H: Idiopathic membranous glomerulonephritis: aspects of geographical differences. *J Clin Pathology* 1986;39:1193-1200.
30. Kida H, Asamoto T, Yokojama H, Tomosugi N, Hattori N: Long-term prognosis of membranous nephropathy. *Clinical Nephrology* 1986;25:64-70.
31. Cattran DC: Idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2001; 59:

1983-1994.

32. A controlled study of short-term prednisone treatment in adults with membranous nephropathy: Collaborative Study of the Adult Idiopathic Nephrotic Syndrome. *N Engl J Med* 1979; 301:1301-1306.
33. Cattran DC, Delmore T, Roscoe J, et al: A randomized controlled trial of prednisone in patients with idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 1989; 320:210-215.
34. Ponticelli C, Zucchelli T, Imbasciati E, et al: Controlled trial of methylprednisolone and chlorambucil in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 1984; 310:946-950.
35. Ponticelli C, Zucchelli T, Passerini P, et al: A 10-year follow-up of a randomized study with methylprednisolone and chlorambucil in idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int* 1995; 48:1600-1604.
36. Falk RJ, Hogan SL, Muller KE, Jennette JC, et al: Treatment of progressive membranous glomerulopathy: A randomized trial comparing cyclophosphamide and corticosteroids with corticosteroids alone. *Ann Intern Med* 1992; 116:438-445.
37. Jindal K, Wes M, Bear R, Goldstein M: Long-term benefits of therapy with cyclophosphamide and prednisone in patients with membranous glomerulonephritis and impaired renal function. *Am J Kidney Dis* 1992; 19:61-67.
38. Cattran DC, Greenwood C, Ritchie S, et al: A controlled trial of cyclosporine in patients with progressive membranous nephropathy. *Kidney Int* 1995; 47:1130-1135.
39. Rostoker G, Belghiti D, Maadi AB, et al: Long-term cyclosporine A therapy for severe idiopathic membranous nephropathy. *Nephron* 1993; 63:335-341.
40. Amico GD, Gentile MG, Fellin G, et al: Effect of dietary protein restriction on the progression of renal failure: A prospective randomized trial. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9:1590-1594.
41. Gansevoort RT, de Zeeuw D, de Jong PR: Additive antiproteinuric effect of ACE inhibition and low-protein diet in human renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:497-504.
42. Peterson JC, Adler S, Burkart JM, et al: Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. *Ann Intern Med* 1995; 123:754-762.
43. Pedrini MT, Levey AS, Lau J, et al: The effect of dietary protein restriction on the progression of diabetic and nondiabetic renal disease: A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1996;124:627-632.
44. Ruggenti P, Perna A, Gherardi G, et al: Renoprotective properties of ACE-inhibition in non-diabetic nephropathies with non-nephrotic proteinuria.

- Lancet 1999; 354:359-364.
45. Abbate M, Benigni A, Bertani T, Remuzzi G: Nephrotoxicity of increased glomerular protein traffic. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14:304-312.
 46. Wheeler DC & Bernard DB: Lipid abnormalities in the nephrotic syndrome: Causes, consequences, and treatment. *Am J Kidney Dis* 1994; 23:331-346.
 47. Ordonez JD, Hiatt RA, Killebrew EJ, Fireman BH: The increased risk of coronary heart disease associated with nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1993; 44:638-642.
 48. Horii Y, Iwano M, Hirata E, Shiiki M, Fujii Y, Dohi K, Ishikawa H: Role of interleukin-6 in the progression of mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 1993;39(suppl):S71-S75.
 49. Edgington TS, Lee S, Dixon EJ. Persistence of the autoimmune pathogenic process in experimental autologous immune complex nephritis. *J Immunol* 1969;103:528-536.
 50. Medcraft J, Himan GA, Sachs JA, Whichelow CE, Raafat I, Moore RH: Autoimmune renal disease and tumour necrosis factor β gene polymorphism. *Clin Nephrol* 1993;40:63-68.
 51. Wu TH, Tsai CY, Yang WC: Excessive expression of the tumor necrosis factor- α gene in the kidneys of patients with membranous glomerulonephritis. *Chin Med J (Taipei)* 1998;61:524-530.
 52. Bruijn JA, Hoedemaeker PJ: Nephritogenic immune reaction involving native renal antigen. In: Massry & Glassock's Textbook of nephrology 3rd ed. edited by Massry SG, Glassock RJ: Maryland, Williams & Wilkins, 1995.
 53. Arend W: Interleukin 1 receptor antagonist: a new member of the Interleukin 1 family. *J Clin Invest* 1991; 5: 1445-1451.
 54. Cantagrel A, Navaux F, Loubet-Lescoulie P, Nourhashemi F, Enault G, Abbal M, Constantin A, Laroche M, Mazieres B: Interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4, and interleukin-10 gene polymorphisms: relationship to occurrence and severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis-Rheum.* 1999; 42(6): 1093-100
 55. Steinkasserer A, Spurr NK, Cox S, Jeggo P, Sim RB: The human IL-1 receptor antagonist gene (IL1RN) maps to chromosome 2q14-q21, in the region of the IL-1 alpha and IL-1 beta loci. *Genomics* 1992; 13(3): 654-7
 56. Miossec P, Naviliat M, Dupuy-d'Angeac A, Sany J, Banchereau J: Low levels of interleukin-4 and high levels of transforming growth factor beta in rheumatoid synovitis. *Arthritis Rheum* 1990; 33(8): 1180-7.
 57. McDonbell GV, Kirk CW, Hawkins SA, Graham CA: An evaluation of Interleukin genes fails to identify clear susceptibility loci for multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2000; 176:4-12.

58. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV: An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997; 24(1): 1-8.
59. Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, Mosmann TR, Howard M, Moore KW, et al: IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J Immunol* 1991; 146:3444-3451.
60. Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR: Interleukin-10. *Annu Rev Immunol* 1993; 11:165-190.
61. Wanidworanun C, Strober W: Predominant role of tumor necrosis factor- α in human monocyte IL-10 synthesis. *J Immunol* 1993; 151:6853-6861.
62. Bosse HM, Bohm R, Resch S, Bachmann S: Parallel regulation of constitutive NO synthase and renin at JGA of rat kidney under various stimuli. *Am J Physiol.* 1995; 269(6 Pt 2): F793-805
63. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Kugiyama K, Ogawa H, Motoyama T, Saito Y, Ogawa Y, Miyamoto Y, Nakao K. T⁻⁷⁸⁶→C Mutation in the 5'-Flanking Region of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Is Associated With Coronary Spasm. *Circulation* 1999;99:2864-2870.
64. Lifton RP: Molecular genetics of human blood pressure variation. *Science* 1996 272:676-680.
65. Taylor SI: Deconstructing type 2 diabetes. *Cell* 1999;97:9-12.
66. Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U: Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994;330:1041-1046.
67. Tsukada T, Yokoyama K, Arai T, Takemoto F, Hara S, Yamada A, Kawaguchi Y, Hosoya T, Igari J: Evidence of association of the ecNOS gene polymorphism with plasma NO metabolite levels in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 245:190-193
68. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991;43:109-142.
69. Quyyumi AA, Dakak N, Andrews NP, Gilligan DM, Panza JA, Cannon RO III. Contribution of nitric oxide to metabolic coronary vasodilation in the human heart. *Circulation.* 1995;92:320-326.
70. Cooke JP, Rossitch E, Andon NA Jr, Loscalzo J, Dzau VJ. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest.* 1991;88:1663-1671.
71. Okumura K, Yasue H, Matsuyama K, Ogawa H, Kugiyama K, Ishizaka H, Sumida H, Fujii H, Matsunaga T, Tsunoda R. Diffuse disorder of coronary artery vasomotility in patients with coronary spastic angina: hyperreactivity to the

- constrictor effects of acetylcholine and the dilator effects of nitroglycerin. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27:45-52.
72. Kugiyama K, Ohgushi M, Sugiyama S, Motoyama T, Kawano H, Hirashima O, Yasue H. Supersensitive dilator response to nitroglycerin but not atrial natriuretic peptide in spastic coronary arteries in coronary spastic angina. *Am J Cardiol.* 1997;79:606-610.
 73. Motoyama T, Kawano H, Kugiyama K, Okumura K, Ohgushi M, Yoshimura M, Hirashima O, Yasue H. Flow-mediated, endothelium-dependent dilation of the brachial arteries is impaired in patients with coronary spastic angina. *Am Heart J.* 1997;133:263-267.
 74. Yasue H, Kugiyama K. Coronary artery spasm: Japanese view. *Coron Artery Dis.* 1990;1:668-673.
 75. Bertrand ME, LaBlanche JM, Tilmant PY, Thieuleux FA, Delforge MR, Carre AG, Asseman P, Berzin B, Libersa C, Laurent JM. Frequency of provoked coronary arterial spasm in 1089 consecutive patients undergoing coronary arteriography. *Circulation.* 1982;65:1299-1306.
 76. Wilson CB: Study of the immunopathogenesis of tubulointerstitial nephritis using model systems. *Kidney Int* 1989; 35(4):938-53.
 77. Couser WG: Mediation of immune glomerular injury. *Clin Investig* 1993;71(10): 808-11.
 78. Hruby Z, Smolska D, Filipowski H, Rabczynski J, Cieslar E, Kopec W, Dulawa J: The importance of tubulointerstitial injury in the early phase of primary glomerular disease. *J Intern Med* 1998;243(3):215-22
 79. Bohle A, Mackensen-Haen S, von Gise H, Grund KE, Wehrmann M, Batz C, Bogenschutz O, Schmitt H, Nagy J, Muller C, et al: The consequences of tubulo-interstitial changes for renal function in glomerulopathies. A morphometric and cytological analysis. *Pathol Res Pract* 1990;186(1):135-44.
 80. Wardle N: Glomerulosclerosis: the final pathway is clarified, but can we deal with the triggers? *Nephron* 1996;73(1):1-7.
 81. Border WA, Noble NA: TGF-beta in kidney fibrosis: a target for gene therapy. *Kidney Int* 1997;51(5):1388-96
 82. Kuncio GS, Neilson EG, Haverty T: Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. *Kidney Int* 39:550-556, 1991
 83. Schena P, Gesualdo L, Grandilano G, Montinaro V: Progression of renal damage in human glomerulonephritides: Is there a sleight of hand in the winning game? *Kidney Int* 52:1439-1457, 1997
 84. Wardle N: Glomerulosclerosis: The final pathway is clarified, but can we deal with the triggers? (editorial) *Nephron* 73:1-7, 1996

85. Border W&Noble N: TGF- β in kidney disease: A target for gene therapy.*Kidney Int* 51:1388-1396, 1997
86. Basile DP: The transforming growth factor beta system in kidney disease and repair: Recent progress and future directions.*Curr Opin Nephrol Hypertens* 8:21-30, 1999
87. Franklin T: Therapeutic approaches to organ fibrosis.*Int J Biochem Cell Biol* 29:79-89, 1997
88. Gupta S, Clarkson MR, Duggan J, Brady HR: Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis. *Kidney Int* 2000; 58(4):1389-99
89. Wong TY, Poon P, Szeto CC, Chan JC, Li PK: Association of plasminogen activator inhibitor-1 4G/4G genotype and type 2 diabetic nephropathy in Chinese patients. *Kidney-Int.* 2000; 57(2): 632-8.
90. Angles-Cano E, Rondeau E, Delarue F, Hagege J, Sultan Y, Sraer JD: Identification and cellular localization of plasminogen activator of the human glomeruli.*Thromb Haemost* 1985; 54:688-692.
91. Rerolle JP, Hertig A, Nguyen G, Sraer JD, Rondeau EP: Plasminogen activator inhibitor type 1 is a potential target in renal fibrogenesis. *Kidney Int* 2000; 58(5): 1841-50.
92. Bosse HM, Bohm R, Resch S, Bachmann S: Parallel regulation of constitutive NO synthase and renin at JGA of rat kidney under various stimuli. *Am J Physiol.* 1995; 269(6 Pt 2): F793-805
93. Beckman JS, Crow JP: Pathological implications of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite formation. *Biochem Soc Trans* 1993; 21(2): 330-4
94. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AIF, Duff GW: Single base polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by *NcoI* restriction of PCR product. *Hum Mol Genet* 1992;1:353.
95. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Pro Natl Acad Sci USA* 1975;72: 3666-3670.
96. Gallbraith GM, Pandey JP: Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene polymorphism in alopecia areata. *Hum Genet* 1995;96: 433-436.
97. Danis VA, Miilington M, Hyland V, Lawford R, Huang Q, Grennan D: Increased frequency of the uncommon allele of a tumor necrosis factor alpha gene polymorphism in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Dis Markers* 1995;12:127-133.
98. Sullivan KE, Wooten C, Schmeckpeper BJ, Goldman D, Petri MA: A promoter polymorphism of tumor necrosis factor a associated with systemic lupus

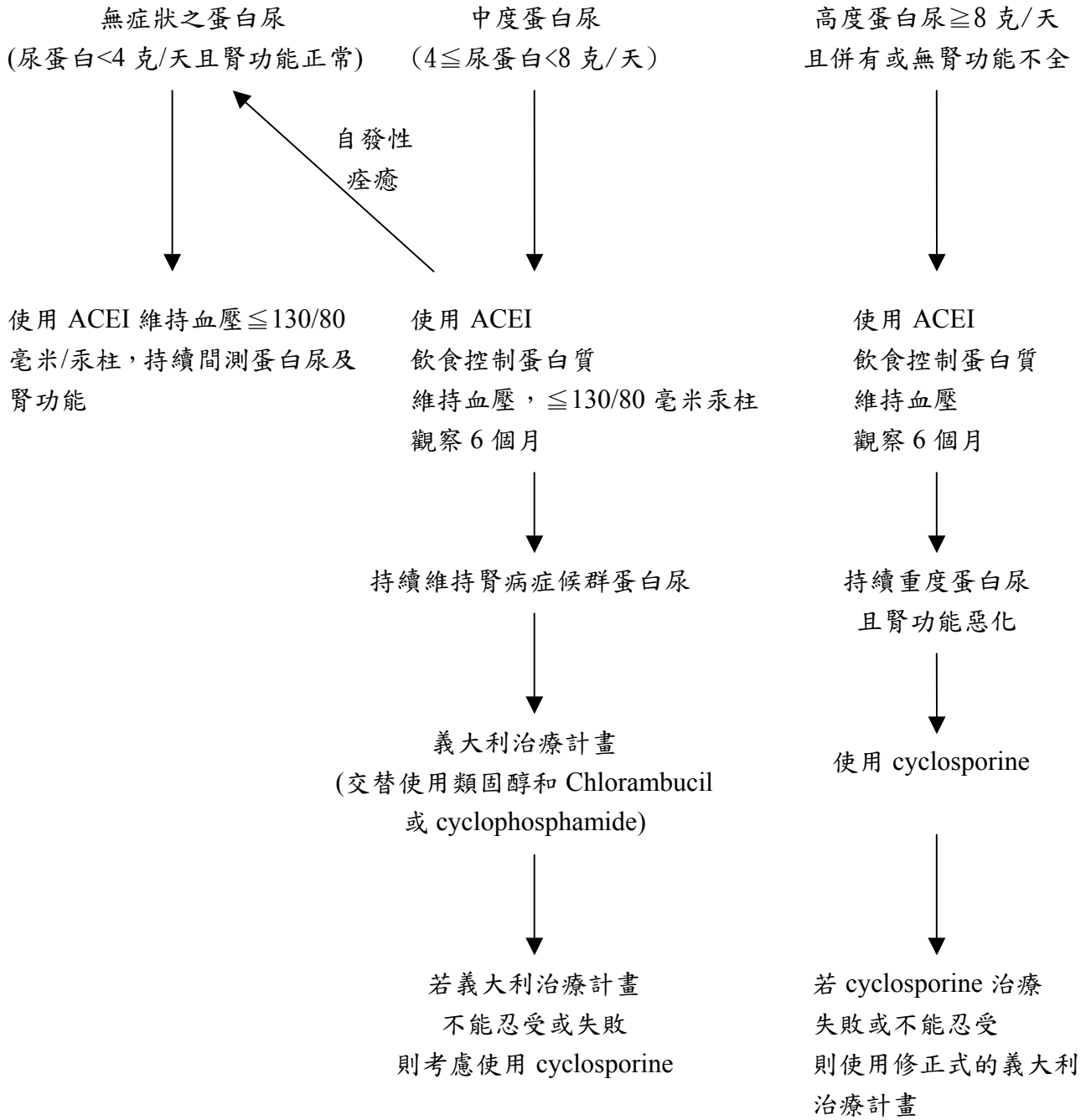
- erythematosus in African-Americans. *Arthritis Rheum* 1997;40:2207-2211.
99. Lisa M: From DNA to drugs. *Mol Med Today* 1999;5:468-469.
100. Grover PK, Moritz RL, Simpson RJ, Ryall RL: Inhibition of growth and aggregation of calcium oxalate crystal in vitro. A comparison of four human proteins. *Eu J Biochem* 1998; 253:637-644.
101. Collins FS, Guyer MS, Chakravarti A: Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. *Science* 1997; 278:1580-1581.
102. Li YJ, Chu S, Lee W: Characterizing the silica deposition vesicle of diatoms. *Protoplasma* 1989; 151:158-163.
103. Johnson GCL, Todd JA: Strategies in complex disease mapping. *Current Opinon in Genet & Development* 2000; 10:330-334.
104. Pratt RE, Dzau VJ: Genomics and hypertension: concepts, potentials, and opportunities. *Hypertension* 1999; 33:238-247.
105. Kone BC&Baylis C: Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *Am J Physiol* 1997;272:F561 F578.
106. Shultz PJ, Schorer AE, Raij L: Effects of endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide on rat mesangial cells. *Am J Physiol* 1990;258:F162 F167.
107. Boulanger C, Luscher TF. Release of endothelin from porcine aorta: inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest.* 1990;85:587-590.
108. Takemoto M, Egashira K, Usui M, Numaguchi K, Tomita H, Tsutsui H, Shimokawa H, Sueishi K, Takeshita A. Important role of tissue angiotensin-converting enzyme activity in the pathogenesis of coronary vascular and myocardial structural changes induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. *J Clin Invest.* 1997;99:278-287.
109. Narita I, Border WA, Ketteler M, Noble NA: Nitric oxide mediates immunologic injury to kidney mesangium in experimental glomerulonephritis. *Lab Invest* 72:17 24, 1995
110. Ferrario R, Takahashi K, Fogo A, Badr KF, Munger KA: Consequences of acute nitric oxide synthesis inhibition in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1994;4:1847-1854.
111. Lamas S, Marsden PA, Li GK, Tempst P, Michel T: Endothelial nitric oxide synthase: Molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:6348 6352.
112. Wang AY, Poon P, Lai FM, Yu L, Choi PC, Lui SF, Li PK: Plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism 4G/4G genotype and lupus nephritis in Chinese patients. *Kidney Int* 2001;59(4):1520-8.
113. Dawson SJ, Wiman B&Hamsten A, et al: The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)

- gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993;268:10739-10745.
114. Panahloo A, Mohamed-Ali V&Lane A, et al: Determinants of plasminogen activator inhibitor-1 activity in treated NIDDM and its relation to a polymorphism in the plasminogen activator inhibitor 1 gene. *Diabetes*1995; 44:37-42.
 115. Eriksson P, van Kallin BT&Hooft FM, et al: Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA*1995;92:1851-1855.
 116. Rondeau E, Mougenot B&Lacave R, et al: Plasminogen activator inhibitor in renal fibrin deposits of human nephropathies. *Clin Nephrol* 1990;33:55-60.
 117. Rerolle JP, Hertig A, Nguyen G, Sraer JD, Rondeau EP: Plasminogen activator inhibitor type 1 is a potential target in renal fibrogenesis. *Kidney Int* 2000;58:1841-50.
 118. Kimura H, Gejyo F, Suzuki Y, Suzuki S, Miyazaki R, Arakawa M: Polymorphisms of angiotensin converting enzyme and plasminogen activator inhibitor-1 genes in diabetes and macroangiopathy. *Kidney Int* 1998; 54:1659-1669.
 119. Carmeliet P & Collen D: Vascular development and disorders: Molecular analysis and pathogenic insights. *Kidney Int* 1998;53:1519 1549.
 120. Wagner SN, Atkinson MJ, Wagner C, Hofler H, Schmitt M, Wilhelm O: Sites of urokinase-type plasminogen activator expression and distribution of its receptor in the normal human kidney. *Histochem Cell Biol* 1996;105: 53-60
 121. Wojta J, Hoover RL, Daniel TO: Vascular origin determines plasminogen activator expression in human endothelial cellsrenal endothelial cells produce large amount of single chain urokinase type plasminogen activator. *J Biol Chem* 1989; 264(5): 2846-2852
 122. Eddy AA, Giachelli CM: Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overloaded proteinuria. *Kidney Int* 1995; 47(6): 1546-1557.
 123. Kitching AR, Holdsworth SR, Ploplis VA, Plow EF, Collen D, Carmeliet P, Tipping PG: Plasminogen and plasminogen activators protect against renal injury in crescentic glomerulonephritis. *J Exp Med* 1999; 185(5): 963-8.
 124. Chen WC, Chen HY, Wu JY, Chen YT, Tsai FJ: Arginine form of p21 gene codon 31 is less prominent in patients with calcium oxalate stone. *Urol Res* 2001; 29: 94-97
 125. Chen WC, Wu HC, Lin WC, Wu MC, Hsu CD, Tsai FJ: The association of androgen receptor gene and estrogen receptor gene polymorphisms with urolithiasis in males. *Br J Urol* 2001; 88: 432-436.

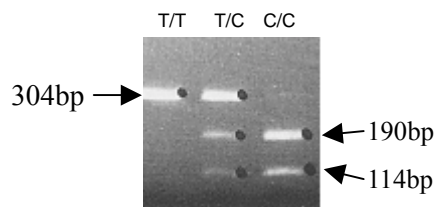
126. Tripputi P, Blasi F, Verde P, Cannizzaro LA, Emanuel BS, Croce C M: Human urokinase gene is located on the long arm of chromosome 10. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:4448-4452.
127. di-Giovine FS, Takhsh E, Blakemore AI, Duff GW: Single base polymorphism at -511 in the human interleukin-1 beta gene (IL1 beta). *Hum Mol Genet* 1992; 1(6): 450
128. Kerjaschki D: The pathogenesis of membranous glomerulonephritis: From morphology to molecules. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1990;158:253-271.
129. Neale TJ, Rüger BM, Macaulay H, Dubar R, Hasan Q, Bourke A, Murray-Macintosh RP, Kitching AR: Tumor necrosis factor- α is expressed by glomerular visceral epithelial cells in human membranous nephropathy. *Am J Pathol* 1994;146:1444-1454.
130. Honkanen E, Teppo A-M, Meri S, Lehto T, Grönhagen-Riska C: Urinary excretion of cytokines and complement SC5b-9 in idiopathic membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:1553-1559.
131. Shu KH, Lee SH, Cheng CH, Wu MJ, Chen CH: Impact of Interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor-alpha gene polymorphism on IgA nephropathy. *Kidney Int* 2000; 58:783-789.
132. Hajeer AH, Hutchinson IV: TNF-alpha gene polymorphism: clinical and biological implications. *Microsc Res Tech* 2000; 50:216-228.
133. Rosenwasser LJ, Klemm DJ, Dresback JK, Inamura H, Mascali JJ, Klinnert M, Borish L: Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy. *Clin. Exp. Allergy* 1995;25: 74-78
134. Walley AJ, Cookson WO: Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for associations with asthma and atopy. *J. Med. Genet* 1996;33: 689-692.
135. Noguchi E, Shibasaki M, Arinami T, Takeda K, Yokouchi Y, Kawashima T, Yanagi H, Matsui A, Hamaguchi H: Association of asthma and the interleukin-4 promoter gene in Japanese. *Clin. Exp. Allergy* 1998;28: 449-453
136. Zhu S, Chan Yeung M, Becker AB, Dimich Ward H, Ferguson AC, Manfreda J, Watson WT, Pare PD, Sandford AJ: Polymorphisms of the IL-4, TNF-alpha, and Fcepsilon RIbeta genes and the risk of allergic disorders in at-risk infants. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 161: 1655-1659.
137. Saltman DL, Dolganov GM, Warrington JA, Wasmuth JJ, Lovett M: A physical map of 15 loci on human chromosome 5q23-q33 by two-color fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 1993; 16: 726-32.
138. Rosenwasser LJ, Borish L: Genetics of atopy and asthma: the rationale behind promoter-based candidate gene studies (IL-4 and IL-10). *Am J Respir Crit Care*

- Med 1997; 156: S152-5.
139. Moore KW, O'Garra AO, de Waal Malefyt R, et al. Interleukin-10. *Anti Rev Immunol* 1993;11: 165-90.
 140. Thompson K, Maltby J, Fallowfield J, et al. Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation and fibrosis. *Hepatology* 1998;28:1597-1606.
 141. Del Prete GM, DeCarli F, Almerigogna MG, et al. Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigenspecific proliferation and cytokine production. *J In* 1993;150:353-60.
 142. de Waal Malefyt RJ, Haanen H, Spits MG, et al Interleukin 10 (IL-10) and viral IL-10 strongly reduce antigen-specific human T cell proliferation by diminishing the antigen presenting capacity of monocytes via down regulation of class II major histocompatibility complex expression. *Y Exp Med* 1991;174:915-924.
 143. Willems F, Marchant A, Delville JP, et al. Interleukin-10 inhibits B7 and intercellular adhesion molecule-1 expression on human monocytes. *Eur t Int inol* 1994;24:1007-9.
 144. Thompson K, Maltby J, Fallowfield J, et al. Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation and fibrosis. *Hepatology* 1998;28:1597 606.
 145. de Waal Malefyt RJ, Abrams J, Bennett B, et al. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp N/ed* 1991;174:1209-20.
 146. Fiorentino DE, Zlotnik A, Mosmann TR, et al IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol* 1991;147:3815-22.
 147. Grove J, Daly AK, Bassendine MF, Gilvarry E, Day CP: Interleukin 10 promoter region polymorphisms and susceptibility to advanced alcoholic liver disease. *Gut*. 2000; 46: 540-5.
 148. Strachan T, Read AP (1999) Genetic mapping of complex characters. In: Strachan T, Read AP: *Human Molecular Genetics*. 2nd edi. John Wiley & Sons (Asia) Singapore, p287.

圖一、膜性腎病變之治療指引

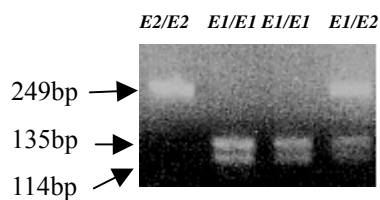


II-1B



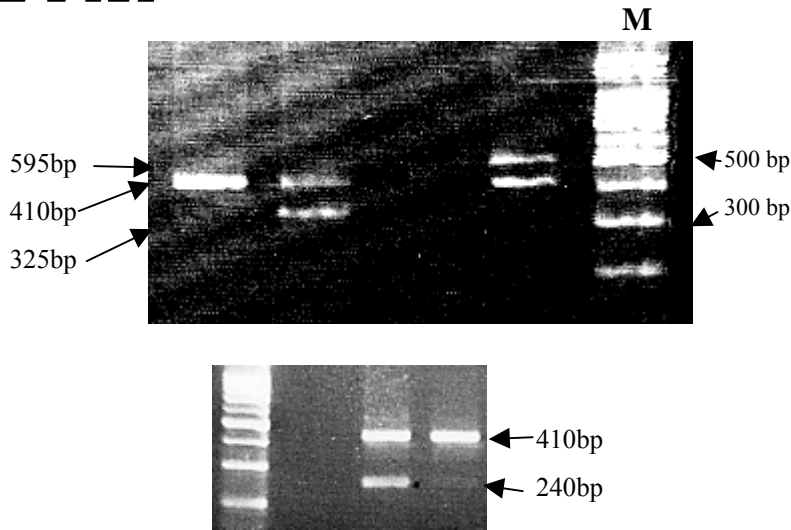
圖二、第一白血球介素β啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖。可在啟動子基因-511位置，使用 *Ava* I 將其切成 190-bp 及 114-bp 者為含核酸”C”之對偶基因。若無法切斷則為 304-bp 含核酸”T”之對偶基因。

IL-1β exon5

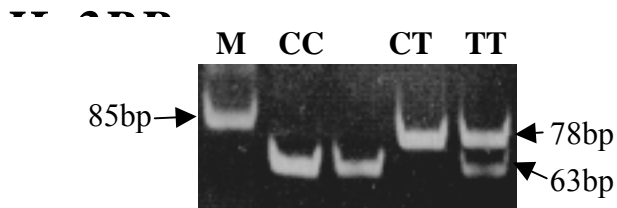


圖三、第一白血球介素β第五外插序列基因多型性的瓊膠電泳圖。可在第五外插序列基因，使用 *Taq* I 將其切成 135-bp 及 114-bp 者為含核酸”E1”之對偶基因。若無法切斷則為 249-bp 含核酸”E2”之對偶基因。

IL-1 RA

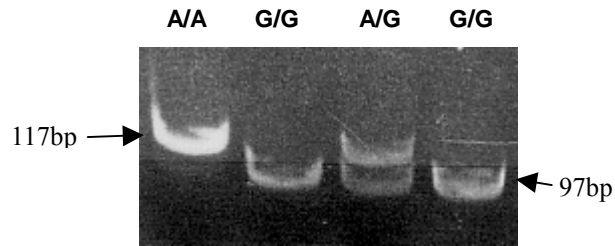


圖四、第一白血球介素受體拮抗者基因多型性的瓊膠電泳圖。其基因上有 86-bp 前後銜重複變異數(Variable number tandem repeat VNTR)之聚合酶鏈反應產物，分成”I”等級是 410-bp，”II”等級是 500-bp，”III”等級是 240-bp，”IV”等級是 325bp，而 595bp 的長度是”V”等級。



圖五、白血球介素二接受體 β 鏈啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖。可在啟動子基因 SNP4065 位置，使用 Hae III 將其切成 78-bp 及 23-bp 者為含核酸”T”之對偶基因。含核酸”C”之對偶基因則會被 Hae III 切成為 63-bp 和 15-bp 及 23-bp 三個基因片段（圖中無法顯示 23-bp 及 15-bp 的基因片段）。

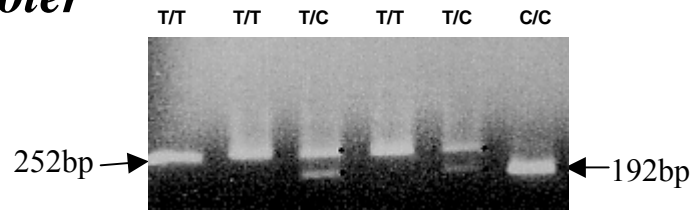
TNF-alpha



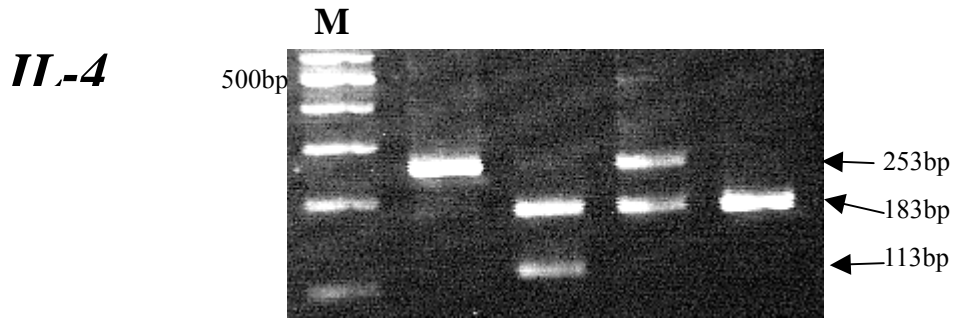
圖六、腫瘤壞死因子 α 啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖。可在啟動子基因-308位置，使用 Nco I 將其切成 20-bp 及 97-bp 者為含核酸”G (guanine)”之對偶基因，稱 allele 1 (TNFA-1)。若無法切斷則為 117-bp 含核酸”A (adenine)”之對偶基因，稱 allele 2 (TNFA-2)。

IL-4

promoter

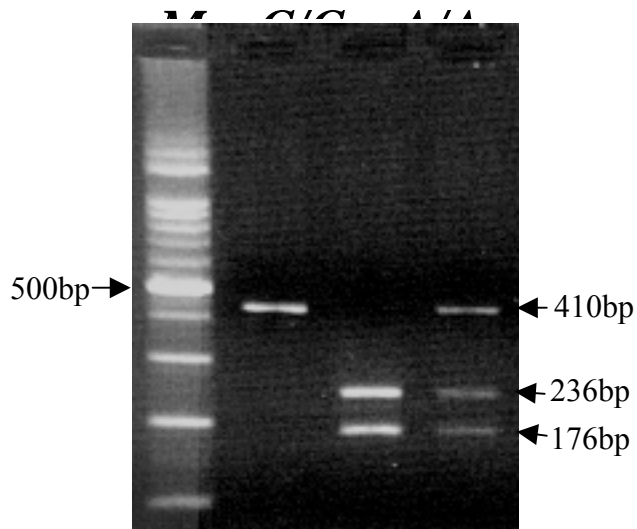


圖七、第四白血球介素啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖。可在啟動子基因-590位置，使用 Bsm FI 將其切成 192-bp 及 60-bp 者為含核酸”C”之對偶基因。若無法切斷則為 252-bp 含核酸”T”之對偶基因。



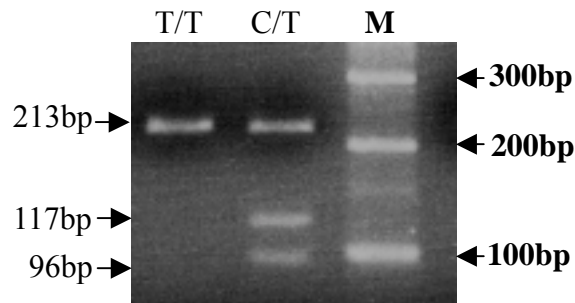
圖八、第四白血球介素第三內插序列基因多型性的瓊膠電泳圖。可在第三內插序列基因，上有 70-bp 前後銜重複變異數(Variable number tandem repeat VNTR)之聚合酶鏈反應產物，依瓊膠電泳圖 RP1 是 183-bp， RP2 是 253-bp。

IL-10



圖九、第十白血球介素啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖。可在啟動子基因-627 位置，使用 Rsa I 將其切成 176-bp 及 236-bp 者為含核酸”A”之對偶基因。若無法切斷則為 412-bp 含核酸”C”之對偶基因。

ecNOS promoter



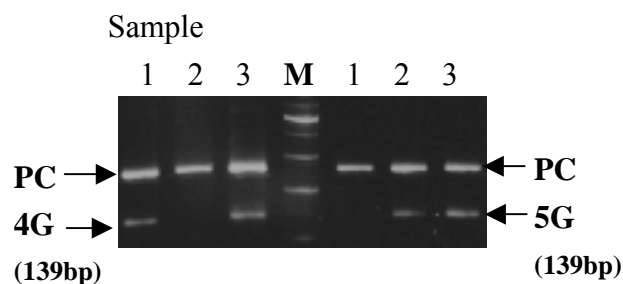
圖十、氧化氮合成酶啟動子基因多型性的瓊膠電泳圖。可在啟動子基因-786 位置，使用 NgoM IV 將其切成 117-bp 及 96-bp 者為含核酸”C”之對偶基因。若無法切斷則為 213-bp 含核酸”T”之對偶基因。

EcNOS Intron 4



圖十一、氧化氮合成酶第四內插序列基因多型性的瓊膠電泳圖。可在第四內插序列基因，上有 27-bp 前後銜重複變異數(Variable number tandem repeat VNTR)之聚合酶鏈反應產物，依瓊膠電泳圖有四個重複序列稱 a-deletion (400-bp)及五個重複序列之 b-insertion (420-bp)。

PAI-1 (4G/5G)



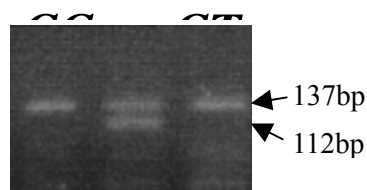
Sample 1 : 4G/4G

Sample 2 : 5G/5G

Sample 3 : 4G/5G

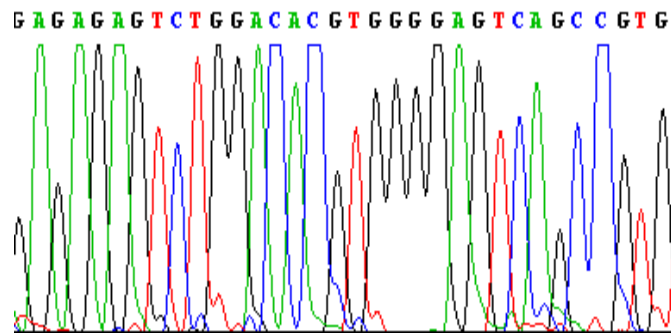
圖十二、細胞漿質素原活化因子抑制因子(PAI-1)基因啟動子之基因多型性的瓊膠電泳圖。PAI-1 4G/5G 基因型鑑定，利用 Genomic DNA 與 PAI-1 基因啟動子，視其加入專一性之上游引子 3'端是 4 個 G 或 5 個 G，在兩個瓊膠電泳圖中，是否出現 139-bp 之對偶基因，在以 4G 為專一性之上游引子者，為有 PAI-1 4G 對偶基因，而以 5G 為專一性之上游引子者，為有 PAI-1 5G 對偶基因。

Urokinase(S)

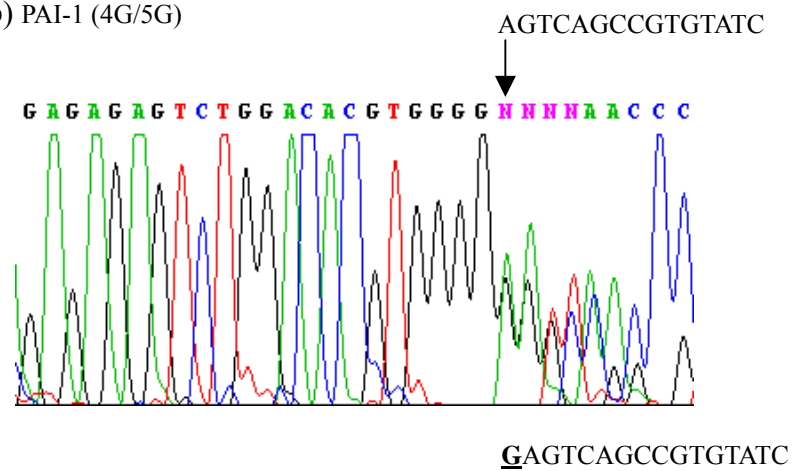


圖十三、尿激素基因 3'不轉錄區(3'-UTR)基因多型性的瓊膠電泳圖。在 3'不轉錄區基因+4065 位置(過去被命名為:G27040),使用 ApaL I 將其切成 112-bp 及 25-bp 者為含核酸”T”之對偶基因。若無法切斷則為 137-bp 含核酸”C”之對偶基因。

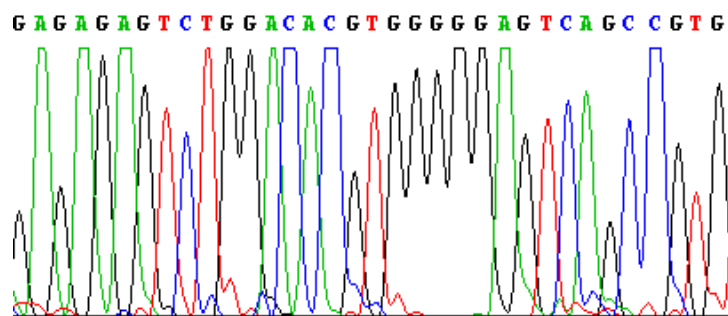
(a) PAI-1 (4G/4G)



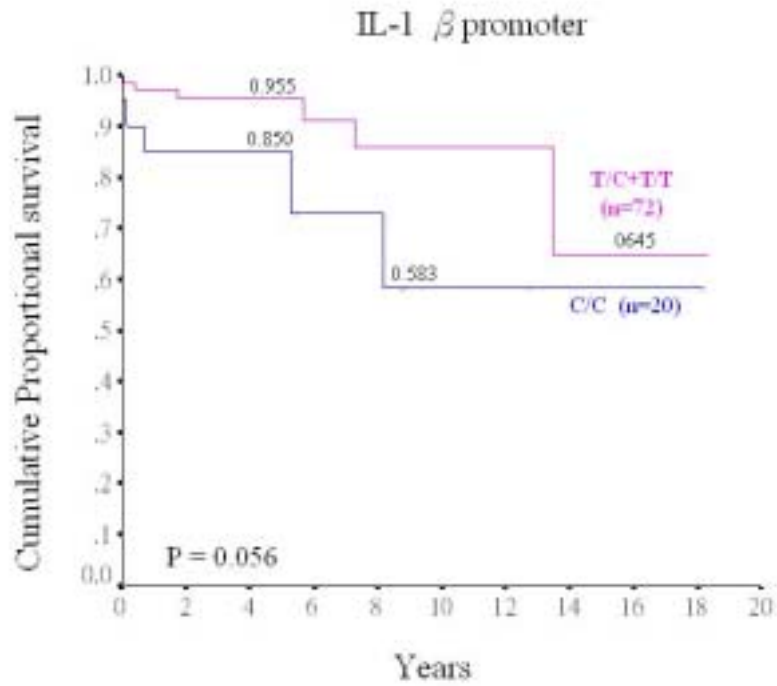
(b) PAI-1 (4G/5G)



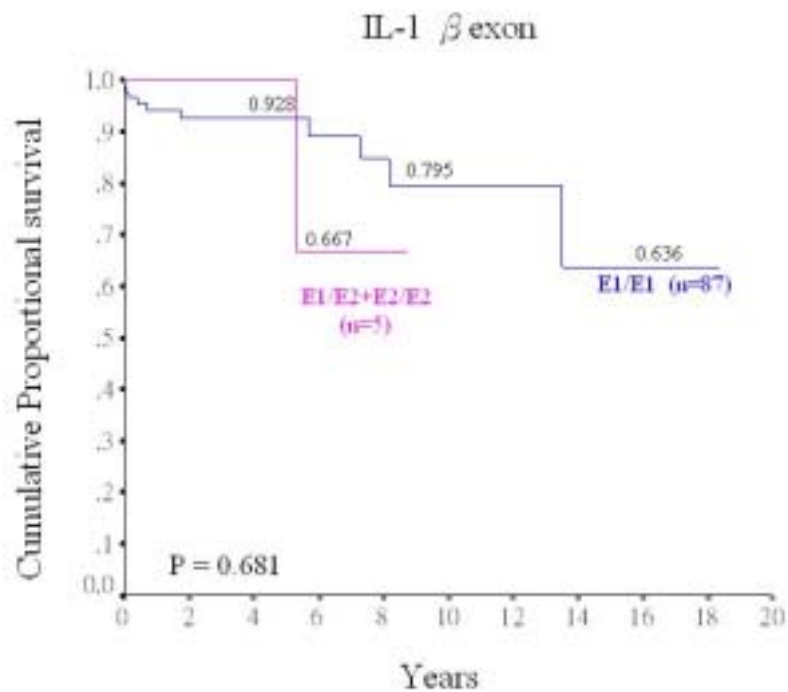
(c) PAI-1 (5G/5G)



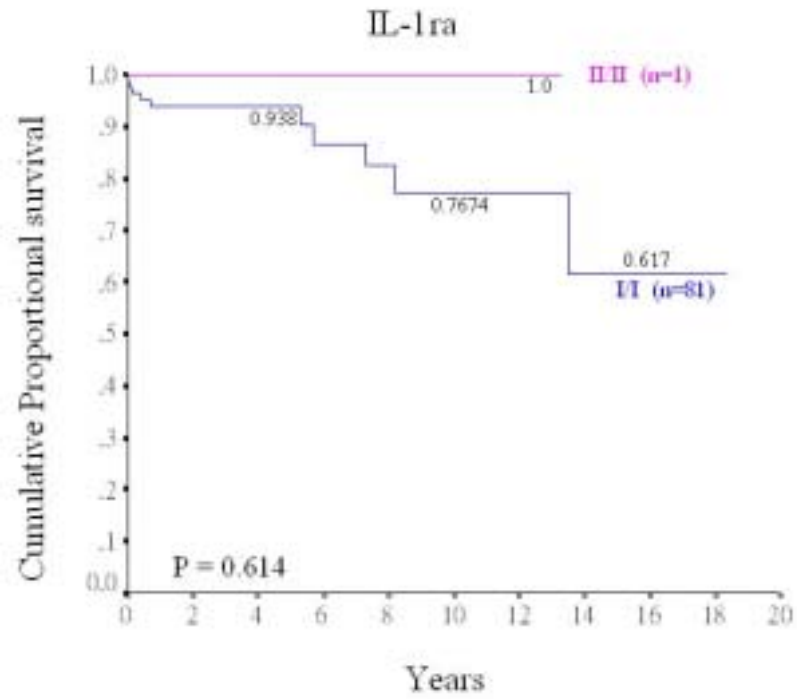
圖十二之一、細胞漿質素原活化因子抑制因子(PAI-1)基因啟動子之基因多型性的核酸序列圖。(a) 為 PAI-1 4G/4G 核酸序列, (b) 為 PAI-1 4G/5G 核酸序列, (c) 為 PAI-1 5G/5G 核酸序列。



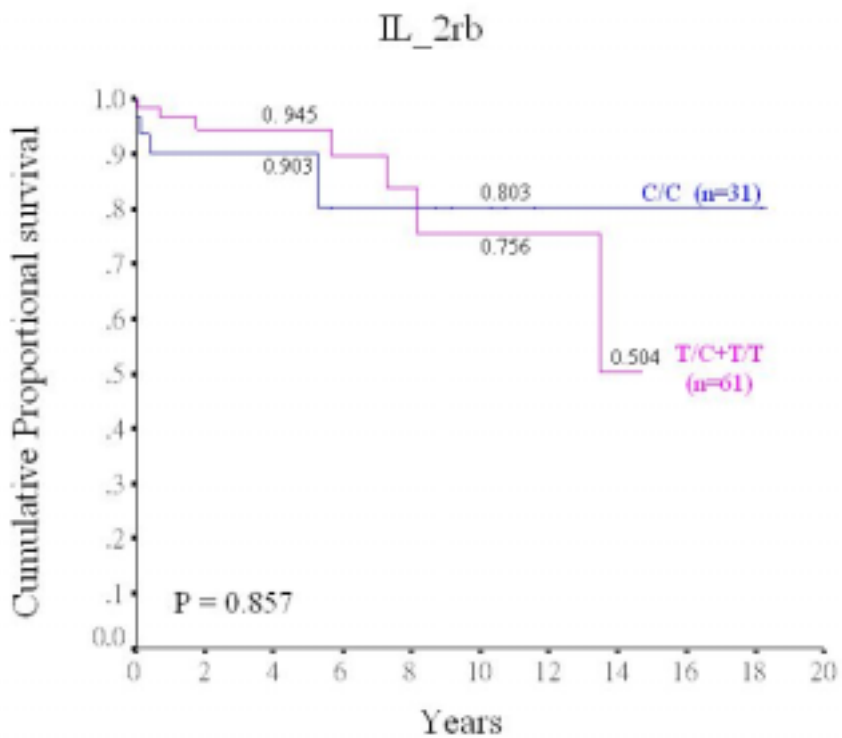
圖十四、第一白血球介素 β 啟動子基因多型性對膜性腎病變病患腎臟 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



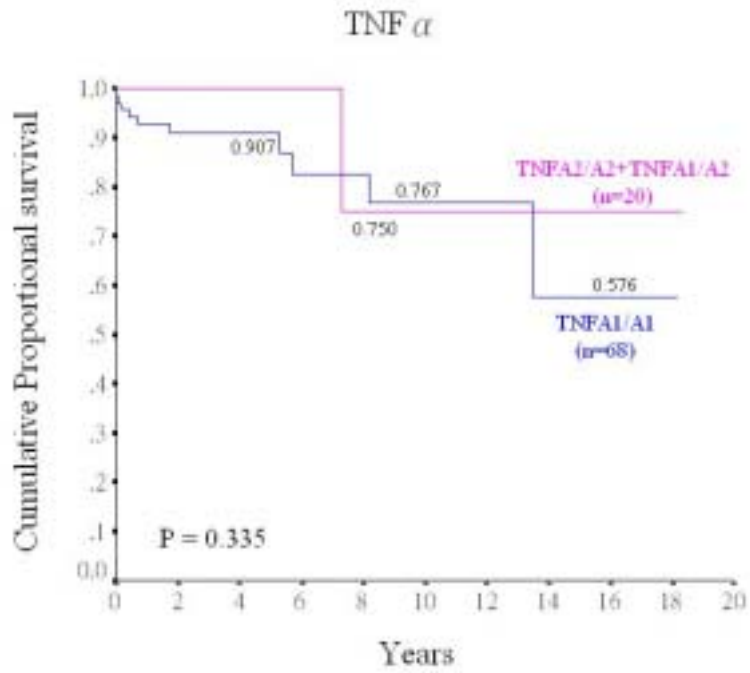
圖十五、第一白血球介素 β 第五外插序列基因多型性對膜性腎病變病患 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



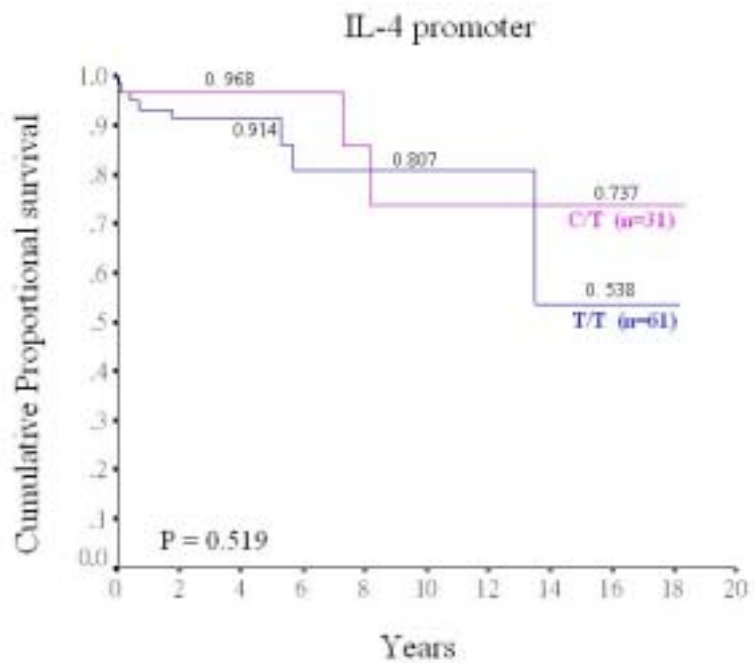
圖十六、第一白血球介素受體拮抗者基因多型性對膜性腎病變病患 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



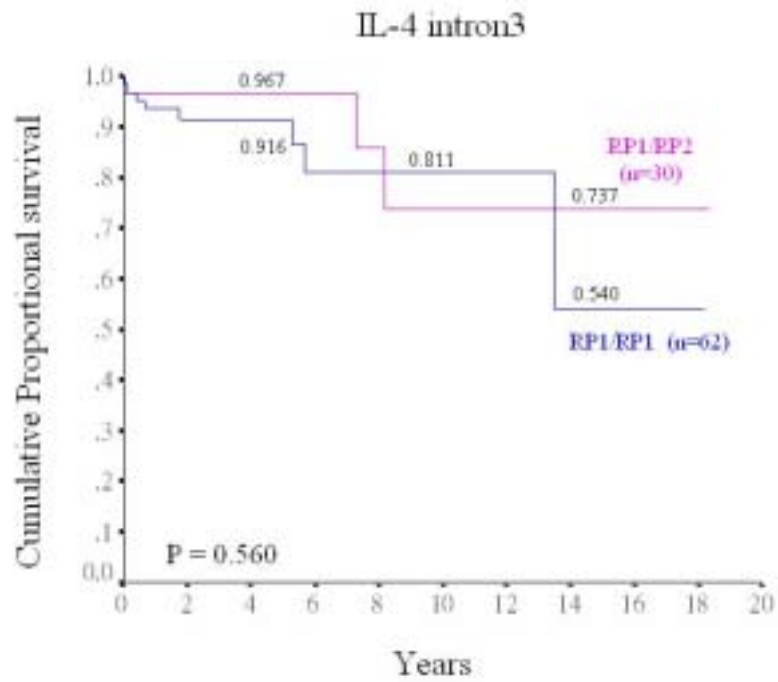
圖十七、白血球介素二接受體β鏈啟動子基因多型性對膜性腎病變病患 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



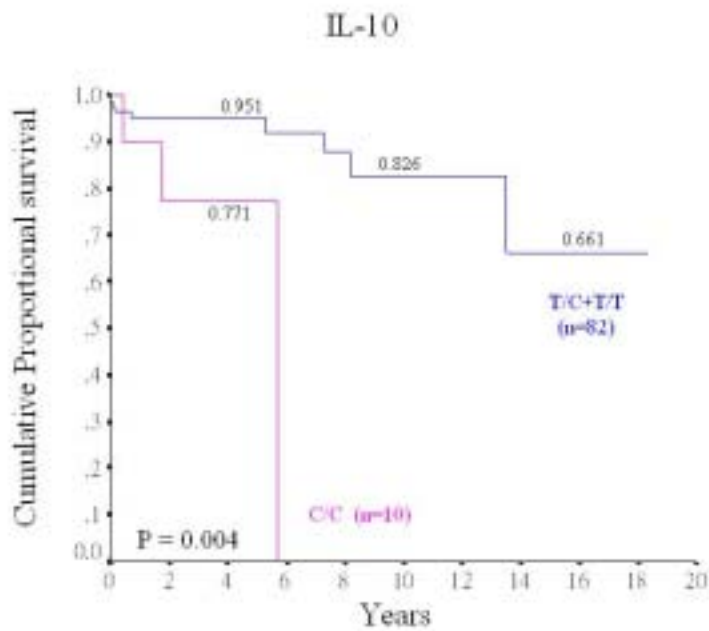
圖十八、腫瘤壞死因子 α 啟動子基因多型性對膜性腎病變病患 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



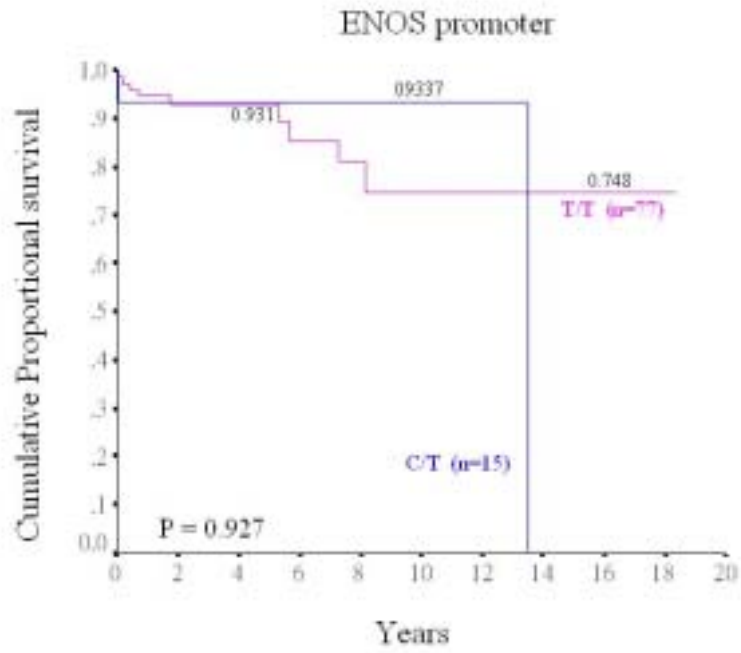
圖十九、第四白血球介素啟動子基因多型性對膜性腎病變病患 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



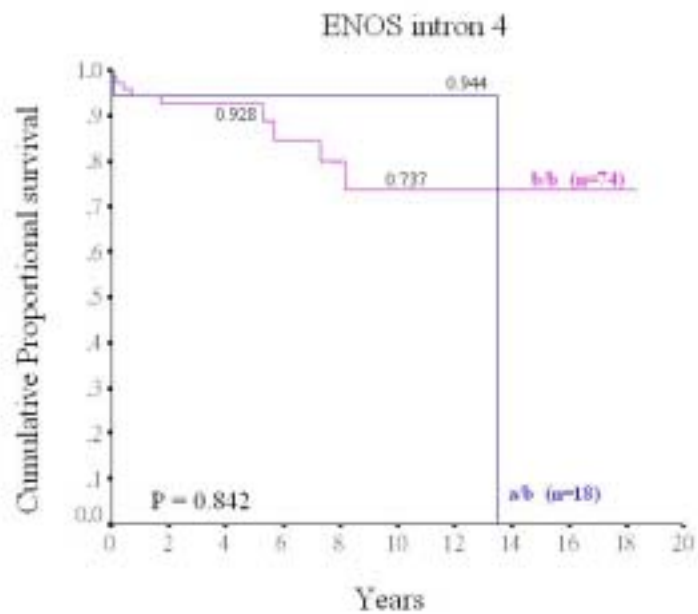
圖二十、第四白血球介素第三內插序列基因多型性對膜性腎病變病患 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



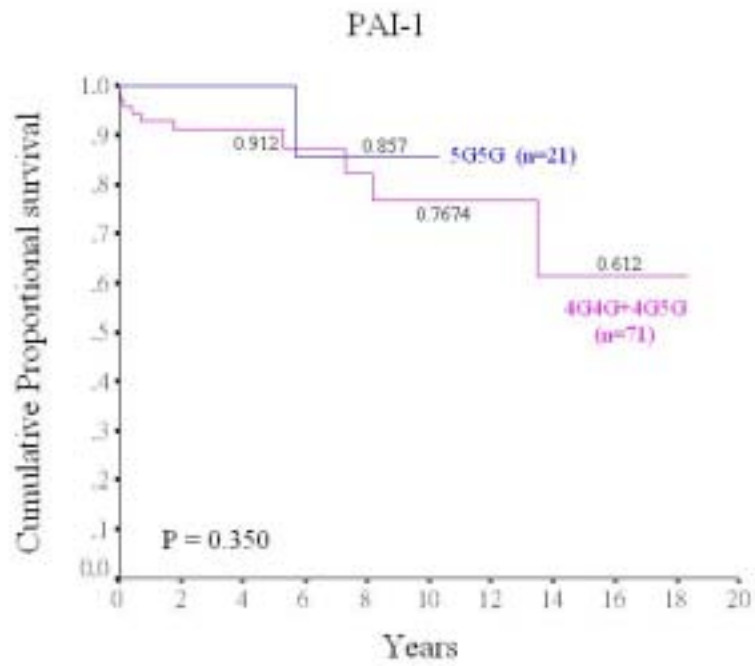
圖二十一、第十白血球介素啟動子基因多型性對膜性腎病變病患 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



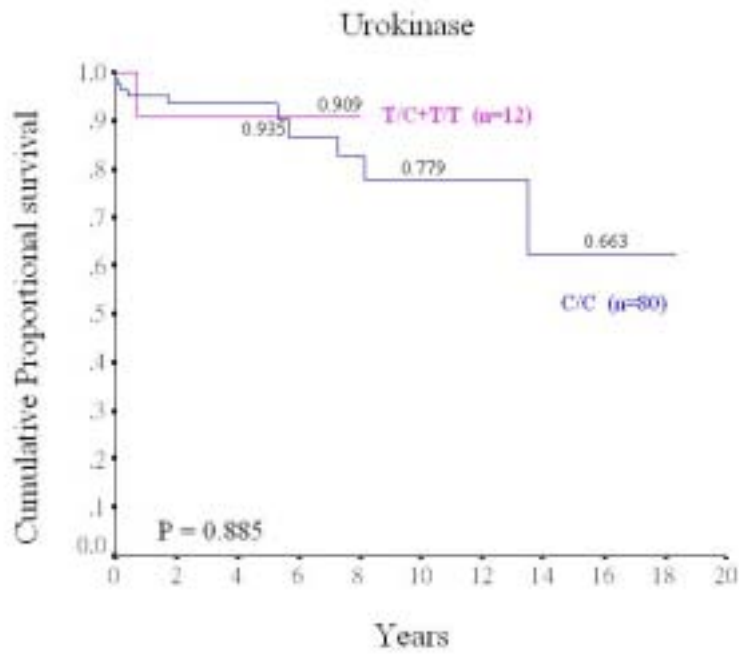
圖二十二、氧化氮合成酶啟動子基因多型性對膜性腎病變病患 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



圖二十三、氧化氮合成酶第四內插序列基因多型性對膜性腎病變病患 Kaplan-Meier 存活曲線圖。



圖二十四、PAI-1 基因啟動子之基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線圖



圖二十五、尿激素基因 3'不轉錄區(3'-UTR)基因多型性對膜性腎病變病患腎臟存活曲線圖

Abstract

Background: Idiopathic membranous nephropathy remains the most common cause of the nephrotic syndrome in adults in the world. Because of its frequency, it remains the second or third most common cause of end-stage renal disease within the primary glomerulonephritis group, despite its unusual natural history in which many patients have a spontaneous and complete recovery. This outcome has not changed much over the past 3 decades as indicated by a recent publication reporting a 30% spontaneous complete remission rate at 5 years and 25% proceeding to end-stage renal disease by the end of 8 years. Although, many effort to find the pathogenesis and new modality of management and well-controlled hypertension with new antihypertensive regimen, but the prognosis was not improved. The genetic study of idiopathic membranous nephropathy is limited to the association of human lymphocyte antigen (HLA), so we conduct this study to find the genetic factors in idiopathic membranous nephropathy.

Methods: We enrolled 92 patients, received renal biopsy proved as membranous nephropathy at the Veterans General Hospital, excluding secondary to underlying diseases, and 145 physical check-up adults (age \geq 18 years old) without any sign of systemic disease served as normal control. The clinical data was from the medical records. Every patient was followed at least 6 months. The genomic DNA was extracted from peripheral lymphocyte, and propagated by polymerase chain reaction (PCR). The genetic markers were divided into 4 classes: (1) pro-inflammatory cytokines genes: Interleukin-1 (IL-1) promoter and exon 5, IL-1Ra, IL-2R β and TNF- α ; (2) anti-inflammatory cytokines genes: IL-4 promoter, IL-4 intron 3 and IL-10 promoter; (3) endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene: promoter and intron 4; (4) fibrogenesis genes: plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) promoter and urokinase 3'-UTR genes. We will analyze the association of clinical manifestations, correlation of pathological changes and response to different modality of managements. The renal survivals between different genetic factors were compared by Kaplan-Meier survival curve to define the effects.

Results: There are no genetic distribution, allele frequencies and allele carriage rates between MN and normal control in IL-1 b promoter, exon 5, IL-1Ra, IL-2R β and TNF- α , IL-4 exon 3, PAI-1 and eNOS intron 4. The IL-4 promoter -570T allele had higher allele carriage rate in MN (100%) than control (94.2%, $P = 0.03$). The genetic distribution in IL-10 promoter gene -627A/-627A (56.5%) is higher than control (44.7%, $P = 0.045$). The eNOS promoter gene was no CC homozygotes in MN (0%) significantly different to control (27.1%, $P = 0.0001$). The allele carriage rates were C allele (17.4%) and T allele (100%) higher than control C allele (74.3%) and T allele

(72.9%, $P < 0.0001$). The risk ratio of C allele was 0.07, and 95% confidence interval was 0.04-0.14. In the analysis of clinical manifestation, the 4G-allele carriers (4G/4G and 4G/5G) of PAI-1 gene is more rapid disease progression in 5G/5G homozygotes. The IL-10 promoter gene C/C homozygotes has poor renal survival of MN to T/C heterozygotes and T/T homozygotes ($P = 0.004$, Kaplan-Meier survival curve).

Conclusion: There were 9 proteins with 12 genetic markers evaluated in MN. The eNOS promoter is a good genetic marker to MN. Though the genetic distribution of IL-10 promoter and urokinase 3'UTR genes also significantly different to control in MN, but there were no difference in allele frequencies and allele carriage rates. The PAI-1 4G-allele carriers seem to be a poor predictor and -627*C/-627*C of IL-10 homozygotes had poor renal survival. In the study, we could not conduct the correlation of pathological findings and response to different modalities due to small patient population. We need to design a prospective and long-term study to approve our present findings and to find the more detailed genetic marks to MN. In the future, we could use this data to be a tool of diagnosis (prevent medicine and pharmacogenomics), to understand the basic biologic effects for drug therapy and even to do gene therapy.

個人經歷

陳呈旭

性別：男

出生日期：民國 54 年 9 月 20 日

出生地：台中縣

學歷：台中縣大雅國小(一至二年級)：60 年 9 月至 62 年 6 月

台中市大鵬國小(三至六年級)畢業：62 年 9 日至 66 年 6 月

私立明道中學初中部畢業：66 年 9 月至 69 年 6 月

省立台中二中畢業：69 年 9 月至 72 年 6 月

私立中國醫藥學院醫學系畢業：73 年 9 月至 80 年 6 月

私立中國醫藥學院醫學研究所臨床組：89 年 9 月迄今

醫師證書：民國 80 年 9 月醫師考試及格

民國 85 年 10 月內科專科醫師考試及格

民國 87 年 10 月腎臟專科醫師考試及格

經歷：

中華民國工兵學校 8831 醫務所少尉醫官：80 年 7 月至 82 年 6 月

台中榮民總醫院內科部住院醫師：82 年 7 月至 85 年 6 月

台中榮民總醫院內科部腎臟科住院總醫師：85 年 7 月至 87 年 6 月

台中榮民總醫院內科部腎臟科主治醫師：87 年 7 月迄今

近五年參與之研究計畫：

1. 臂動脈血管活性是否可以預測當血液透析動靜脈瘻管狹窄之指標
(TCVGH 883601D 整合型計畫協同主持人)
2. 臂動脈血管活性在慢性腎衰竭病患不同之治療方式之差異
(TCVGH 893603D 整合型計畫協同主持人)
3. 血中內皮細胞一氧化氮合成酶及漿酶元活化因子抑物 4G 基因多型性與血液透析病患動靜脈瘻管堵塞之關係
(TCVGH 903607D 整合型計畫協同主持人)
4. 成人慢性腎衰竭的肌病變之腹直肌組織化學及細胞微細變化與正常人之比較
(TCVGH 903606B 計畫主持人)
5. 內皮細胞功能及發炎反應再不同營養狀態的慢性腎衰竭血液透析病患之差異
(TCVGH-913604D 整合型計畫協同主持人)

論文發表情形：

原著及病歷報告：

1. Chen CH, Cheng CH, Shu KH, Wu MJ, Lian JD. Serum Transferrin Receptor Is A Good Index of Erythropoietin Treatment in ESRD. *Acta Nephrologica*, 1997; 12:6-11.
2. Chen CH, Shu KH, Yang CR, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD. Long-Term Results With Pediatric Kidney Transplants In Adult Recipients. *J Formos. Med Assoc* 1999;98:807-13.
3. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD. The Impact Donor Serum Creatinine Level On Long Term Outcome of Renal Allograft. *Transplant Proc* 2000; 32:1595-1596.
4. Chen CH, Wen MC, Wang ML, Lian JD, Wu MJ, Cheng CH, Chang DC, Shu KS. A Regulatory Region Rearranged BKV Is Associated With Tubulointerstitial Nephritis In A Renal Allograft. *J Med Virol* 2001; 64:82-88.
5. Kuo YC, Cheng CH, Shu KH, Chen CH, Lian JD. Dialysate-based urea kinetic modeling: the application of an on-line monitor (BIOTRACT™) in hemodialysis. *Acta Nephrologica*, 1999; 13:55-58.
6. Wu MJ, Lan JL, Shu KH, Cheng CH, Chen CH, Lian JD. Prevalence of subclinical cryoglobulinemia in maintenance hemodialysis patients and kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2000; 35(1):52-7.
7. Chang HR, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Chen CH, Lian JD. Peritoneal-dialysis-associated Penicillium peritonitis. *Am J Nephrol* 2000; 20: 250-252.
8. Chang HR, Lian JD, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Chen CH, Lau YJ, Hu BS. Use off Pulsed-field gel electrophoresis in the analysis of recurrent Staphylococcus aureus infections in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Nephrol* 2000; 20: 463-467.
9. Wu MJ, Shu KH, Cheng CH, Chen CH, Lian JD. MMF-based regimen in the maintenance therapy after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32:1748-1750.
10. Cheng CH, Lian JD, Shu KH, Wu MJ, Chen CH, Chen KF. Increase of hepatocyte growth factor in post renal transplantation. *Transplant Proc* 2000; 32:2070-2072.
11. Tsai RD, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Chen CH, Lian JD. Mycophenolate mofetil therapy in refractory nephritic syndrome—a preliminary report. *Acta Nephrologica*, 2000; 14:66-70.
12. Chang HR, Kao CH, Lian JD, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Chen CH. Evaluation

of the severity of traumatic rhabdomyolysis using Technetium-99m pyrophosphate scintigraphy. Am J Nephrol 2001; 21:208-214.

13. Chang HR, Lian JD, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Chen CH, Kao CH. Evaluation of gallbladder function in patients with diabetic or nondiabetic chronic renal failure by quantitative radionuclide cholescintigraphy. Hepatogastroenterology (in press).
14. Lee WC, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Chen CH, Lian JD. Long-term impact of hepatitis B, C virus infection on renal transplantation. Am J Nephrol 2001; 21:300-306.
15. Lee WC, Wu MJ, Cheng CH, Chen CH, Shu KH, Lian JD. Lamivudine is effective for the treatment of reactivation of hepatitis B virus and fulminant hepatitis failure in renal transplant recipients. Am J Kidney Dis 2001;38:1074-1081.
16. Wang CL, Lee WL, Wu MJ, Cheng CH, Chen CH, Shu KH. Increased QTc dispersion and mortality in uremic patients with acute myocardial infarction. Am J Kidney Dis 2002; 39:539-548.

Chinese Publish (中文著作):

1. Chen CH. Management of minimal change disease. Kidney and Dialysis R.O.C. 2000; 12: 130-135.
(陳呈旭. 微小腎病變之治療 腎臟與透析雜誌 八十九年八月 十二卷第三期 130-135.)

獲獎情形：

1. 民國 89 年獲中華腎臟醫學會雜誌最佳論文獎
2. 民國 90 年獲國家衛生研究院臨床醫師獎助
3. 民國 90 年獲臺中榮民總醫院總醫院優良醫師

海報及口頭報告

1. Chen CH, Cheng CH, Shu KH, Wu MJ, Lian JD: Serum Transferrin Receptor Is A Good Index of Erythropoietin Treatment in ESRD. Congress of International Society of Nephrology (1999 October, Argentina)
2. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD: The Impact Donor Serum Creatinine Level On Long Term Outcome of Renal Allograft. The 6th Congress of the Asia Society of Transplantation (1999 September, Singapore)
3. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD, WHH Sheu, YT Chen: Difference of Endothelial Reactivity Between Intact and Dysfunction Vascular Access on Hemodialysis Patients. The 8th Asian Pacific Congress of Nephrology

(2000 March, Taipei, Taiwan)

4. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD: Prevalence of Tuberculosis in Renal Transplant Recipient. 中華民國移植醫學會年會 (2000 December)
5. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD: Basiliximab (Simulect) Reduced Acute Cellular Rejection in Renal Allografts. 中華民國移植醫學會年會 (2000 December)
6. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD, WHH Sheu, YT Chen: Flow-Independent Endothelial Dysfunction in Chronic Renal Failure Patients on Peritoneal Dialysis and Hemodialysis. 6th Congress of International Peritoneal Dialysis (2001 May, Montreal, Canada)
7. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD: Three-dose Daclizumab (Zenapax) Induction Therapy Reduces the Incidence of Acute Rejection Episodes Following Renal Transplantation. The 10th Congress of European Society of Organ Transplantation (2001 October, Lisboa, Portugal)
8. Chen CH: Ultrasound evaluation of renal artery stenosis. Live demonstration. The Peripheral Vascular Ultrasound Workshop 2001 (2001 September, Taichung, Taiwan)
9. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD, WHH Sheu, YT Chen: The impaired endothelium-dependent and -independent vasodilation of brachial artery in nephrotic syndrome. 台灣腎臟醫學會年會 (2001 December)
10. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD: Prevalence of tuberculosis in renal transplant recipients in Taiwan. The 19th International Congress of Transplantation Society (2002 August, Miami, USA)
11. Chen CH, Shu KH, Cheng CH, Wu MJ, Lian JD: Three-dose daclizumab (zenapax) induction therapy reduces the incidence of acute rejection episodes following renal transplantation (3 year experiences). The 19th International Congress of Transplantation Society (2002 August, Miami, USA)