PG9406-0378 (38 頁)
CCMP94-RD-044

編號: CCMP94-RD-044

行政院衛生署中醫藥委員會 94 年度

研究計畫成果報告

補益類中藥對於癌症療程中對保護及修復正常體幹細胞之功能性基因體分析研究

A Functional Genomic study of Some Bu-Yi Chinese Herbs' Pharmacologic Effect on Protection and Repair of Tissue Stem/Progenitor during Cancer Therapy

執行機構：台北醫學大學　細胞及分子生物研究所

計畫主持人：施 子 弼 .

計畫編號：CCMP94-RD-044

執行期間: 自 94 年 6 月 20 日 至 95 年 6 月 19 日

＊＊ 本研究報告僅供參考，不代表本會意見 ＊＊

目錄

中文摘要.....2

英文摘要.....4

計畫內容

壹、前言.....6

貳、材料與方法.....7

參、結果.....8

肆、討論.....12

伍、結論與建議.....14

陸、參考文獻.....16

柒、圖表.....18

編號：CCMP94-RD-044　　附件 2

補益類中藥對於癌症療程中對保護及修復正常體幹細胞之功能性基因體分析研究

施 子 弼

台北醫學大學　細胞及分子生物研究所

在臨床上，傳統中藥對人體疾病已有廣泛應用，而在許多重大疾病的西醫治療上，中藥亦具有輔助效果，例如目前已知，中藥對於輔助癌症化療後的生理系統恢復，效果明顯。然而到目前為止，對於中藥在細胞組織生理的影響，了解仍非常有限。而近年來，幹細胞的研究已顯示成體幹細胞具多組織修復再生功能，小自身體日常組織細胞之更新，大至提供個體受傷之組織再生功能，都由幹細胞主導。在人體生理恢復過程中，幹細胞之增殖分化調節顯得格外重要，特別是在組織細胞面對環境壓力時，其幹細胞更是扮演著重要角色。

本計畫旨在以系統分子醫學的角度，應用藥物基因體醫學之分析，探討補益類中藥在癌醫療過程中，對人體組織幹原細胞受損之保護及修復藥理，並藉而建立補益類中藥對人體組織幹原細胞基因體表達功能影響之資訊。

在過去的研究中，本實驗室已建立數種人體組織幹細胞分離鑑定及培養之平台—從骨髓、脂肪、臍帶血、包皮、頭皮、羊膜等組織來源分離取得幹細胞，有效率地提供各組織幹細胞之生長、分化及分析檢測，並已初步針對單方藥材如黃耆、西洋參、三七、柴胡、紅景天及複方中藥如人蔘養榮湯、十全大補湯及生脈散等活血化瘀藥材，分析此類中藥對於保護造血功能及促進間質幹細胞生長及分化等細胞活性之藥效分析。本計劃進一步針對其他類似效能之補益類中藥，例如三七，何首烏、四物湯、補中益氣湯、生脈散或其他增進細胞生理機能之單複方藥材，進行修復及調節幹細胞活性之影響進行研究，此外將針對所篩選出之具調節幹細胞活性的中藥材，分析其有效成份於調控幹細胞活性機制之功能性基因體研究。本計畫引用造血幹細胞及間葉幹細胞生長分化之培養系統，研究補益類複方藥材作用於造血及間質細胞生長及分化潛能影響，將利用細胞激素蛋白微陣列、螢光免疫染色及基因晶片對於中藥對於各血球系或間質細胞分化及生長的影響。觀察在中藥作用下，多種幹原組織前驅或幹細胞蛋白激素表達之變化、藥物環境刺激引發的分子相互作用，做出系統分析，藉此建立評估中藥對於細胞生理與功能影響之資訊。

由本研究計畫之執行成果得知補益類中藥對造血性幹原細胞及成體間葉幹細胞有明顯調節增殖或促進分化(包括神經分化及硬/軟骨分化)之功能。探討於人體微環境下補益類中藥方劑或單方藥材，調節幹細胞受放射線傷害前所啟動的保護性相關基因體研究中。發現補中益氣湯可增強特定腫瘤抑制基因及降低特定致癌基因之表現，可保護幹原細胞在受到放射線傷害後不易轉形成為腫瘤細胞；近一步發現補中

益氣湯可加強趨化激素蛋白可促進發炎反應以加強免疫功能，以及血管生成相關因子之表現量。本計畫之執行可對中藥在個體幹細胞生理調節上有更完整了解，提供中藥醫療作用於人體組織幹細胞之分子生理系統效用評估範例，建立一現代化中藥藥理鑑定的新方向，以助中藥之國際化發展。

關鍵詞：人體組織幹/母細胞；補益類中藥方劑；組織再生修復；造血及間質幹細胞；功能性基因體研究

A Functional Genomic study of Some Bu-Yi Chinese Herbs' Pharmacologic Effect on Protection and Repair of Tissue Stem/Progenitor during Cancer Therapy

Daniel Tzu_Bi Shih
Taipei Medical University
Institute of Cell and Molecular Biology

ABSTRACT

Traditional Chinese herbs have been widely prescribed for human diseases in clinic. They also exhibit great potential in treatment of many major illnesses. For an example, Chinese drugs have been found significant effect on the recovery rate of chemotherapeutically treated cancer patients' health. To date, however, the physical-pharmacological understanding of their effects is very limited. Recent studies on stem cells have shown that many adult tissue stem cells are not only capable of maintaining and renewing the catabolized tissue cells in organs but also responsible for our body tissue injury repairs. Most stem cells are normally situated in quiescent state and activated only when stressed by their normal environmental changes. Our body tissue stem cells are therefore very important in protection and maintenance of tissue health, particularly when they were stressed and damaged by physical and chemical environmental pressures.

The objective of this proposal study is to investigate the molecular pharmacologic effect of the traditional chinese Bu-Yi medicine on protecting and repairing of cancer therapeutically damaged normal tissue stem/progenitor cells by means of pharmacogenomic analytical approaches, and at mean time, to initiate the molecular data collection for establishing a human tissue stem cell pharmacologic informatics of Chinese drugs.

We have previously established several human tissue stem/progenitor cell primary cultures for molecular studies on their lineage specific differentiation potentials. *In vitro* cell lineage specific differentiation culture studies on hematopoietic stem/ progenitor cells (peripheral blood, umbilical cord blood, and fetal liver) and on mesenchymal stem/progenitor cells derived from various tissues (bone marrow, peripheral blood, fat, scalp, foreskin, and amniotic membrane tissue) have been examining. We have also initiated a series of test on some selected chinese drugs such as Astragalus membranaceus Bge., Panax quinqueflium L., Panax notoginseng F.H.Chen, Bupleurum chinense DC., Coix lachryma-jobi L. and Rhodiola kirilowii., and analyzing their influences on the differentiations and proliferation of hematopoietic and mesenchymal tissue cells for determining their tissue protection and repairing functions.

In this study, we have pursued a completly study focusing on investigating the molecular pharmacology of other Bu-Yi prescriptions which are well known their components in promoting human body physiological performance by the neutralizing and tonifying tissue organ cells. We found both prescriptions and herbs exhibit distinct and protective regulatory effects on

hematopoietic and mesenchymal stem progenitor cells. We further focusing on study the pharmagenomic influences of the effective Bu-Yi prescriptions by comparison and substractional analyses of gene expression and protein profile changes under irradiation conditon. Our data showed expression of several tumor suppression genes were significantly elevated, while multiple oncogene and tumor antigen genes were repressed when adult mesenchymal stem cells were treated with the Bu-Yi prescription prior to the irradiation damage. The protective effect of Bu-Yi prescription in the irradiation damaged mesenchymal stem/progenitor cells were further qualitatively evaluated by cytokine protein array. In addition to multiple factors were induced by the irradiation stress, more chemokines (such as GROα, NAP2 and GCP2) and angiogenic factor(such as angiopoietin 2) that involved in inflammatory were secreted by adult mesenchymal stem cells when pretreated with Bu-Yi prescription. Take together; our studies indicated the Bu-Yi prescription may exert protective effects by inhibition of cellular transformation and modulation of immune responses. The present study provides better insights into the Chinese drug prescription function by means of the molecular pharmacological understanding of their influences to the targeting tissue stem/progenitor cells. These results of this study may facilitate the application of using tissue progenitor based primary cell culture drug testing system as an additional useful functional assay system for Chinese drug analysis which could be aid to the Chinese drug development.

Key Word: Human tissue stem/progenitor cell; Bu-Chi Chinese medicine, Tissue repair and regeneration; Hematopoietic/Mesenchymal stem cell; Functional genomic study.

壹、前言

附件 4

幹原細胞具有多機能特性，是個體組織器官發育之起源，特別是當個體損傷如同癌症之化療、放射線治療等面臨環境壓力下，幹細胞對於組織傷害復原顯的格外重要，因此透過藥物對幹原/前驅細胞影響的生物系統性研究，除了可增加我們對中藥作用機理了解，並擴大中藥在醫療上與分子生物醫學諮詢之溝通。有效利用系統生物學解析中藥修緒個體受傷器官組織而加速創傷組織的修復藥理，是本計劃的目標。

細胞生長、發育、自動調節(homeostasis)、行為及疾病的發生等錯綜複雜的現象，細胞生理狀態受基因表達及所轉譯之蛋白質所支配，也受到基因的複雜性（包括數以千計的基因所組合成的數百個遺傳途徑）與周遭微環境動態的分子反應所影響。而藥物可能改變了幹原/前驅細胞的基因表達結構而影響細胞分化或增生潛在能力。本計劃的主旨是對於組織之幹原/前驅細胞生長、分化相關之補益類天然藥物，找出其相關之基因表達與細胞功能調節之相關性，進而描繪出於藥物作用下細胞生理狀態改變時基因表達網絡架構。本計劃執行重點包括：(一) 以人類造血幹細胞及間葉幹細胞生長分化之培養系統，研究補益類單複方中藥(包括:三七、何首烏、四物湯、補中益氣湯及生脈散)對於幹細胞生長能力與各血球系細胞調節效用，(二)將利用細胞激素蛋白微陣列及酵素連結免疫吸附分析法，探討補益中藥所誘導產生細胞蛋白激素之功能性基因體藥理。(三)利用基因微陣列晶片,研究中藥在癌症療程的放射性或化療性損傷中，保護及修復損傷之幹細胞過程時，所調節之細胞保護性及修復性基因之蛋白分子藥理分析。基因體表達檢測對象將包含參與細胞生長、細胞週期、細胞凋亡及細胞分化等作用的基因。其他如細胞表面標記抗原與專屬細胞蛋白之表達偵測，可探討細胞生長分化時期與藥物作用效能評估。再與細胞蛋白表達量檢測作交互印證後，我們預期經比對不同藥劑與單方、複方所影響之基因，可探討各種藥劑之有效功能及釐清其分子藥理機制。於調節幹原/前驅細胞分化部份，將針對補益類中藥影響間質葉幹細胞往神經細胞分化的潛能進行評估探討。本計畫將整合功能性基因，細胞學及動物模式的系統性研究，評估補益藥方成份對組織前驅/幹細胞的影響。因此提出此計畫期能對補益類中藥有系統性的活體相當的活性機制有更完整的了解。計劃之順利完成將能提供學、醫界更多中藥透過調節幹細胞活性對於提昇個體調理、保固健身的機理了解，而能增加藥物之有效應用。

貳、材料與方法

一、天然藥物成分萃取：

自衛生署藥檢局取得單方藥材。依據藥典調配成為補中益氣湯，生脈散及四物湯等複方方劑後，於 60℃萃取純水溶性成分，經離心去除不溶之固態物質之後於 45℃水浴中經減壓濃縮約 1~2 hr，濃縮體積至原萃取液體積之百分之一，冷凍凝結後使用真空冷凍乾燥機除去水分，儲存於乾燥箱中。使用前秤重加入 1ml ddH_2O 以 0.22 μm filter 過濾成無菌溶液。調整濃度至 0.1 μg/μl，0.5 μg/μl，2.5 μg/μl，10 μg/μl 後存放於 4℃。施以不同劑量檢測中藥物對於體外培養細胞生長的影響。

二、藥物對於造血幹原前驅幹細胞數量與活性影響之測試：

經由藥物濃度處理後所觀察之典型血球群落，以藥物濃度為 x 軸；群落數目為 y 軸，用迴歸分析比較實驗組與控制組織斜率值。其值為正代表促進負值為抑制作用。觀察不同的藥物及濃度對造血前驅/幹細胞的影響由群落數目 作為判斷藥物之作用是促進或是抑制生長，若群落的數目下降代表造血功能受阻反之若上升則代表造血功能有所提升。

三、體外群落培養分析(*In Vitro* Colony Formation Assay)

觀察造血幹原/前驅細胞在各種細胞激素(Il-3，SCF，GM-CSF，Epo)存在下的半固體培養基(Semi-Solid Methylcellulose Medium)中，形成群落的數量和種類。觀察群落的數量和大小來評估藥物對於早期幹原/前驅細胞的影響。將 MethoCult™ 分裝成 3 ml 一管(15ml tube)存放於-20℃備用，使用時將 MethoCult™ 置於 37℃水浴回溫之後將單核球細胞置於 37℃水浴中迅速解凍以 10 ml 37℃緩衝液中清洗，取出 10 μl 與 trypan blue 染劑 10 μl 混合後計數活細胞。取 3×10^4 活細胞加於 300 μl PBS 中，再將 3×10^4 細胞加入 3 ml MethoCult™ 中以震盪器混合均勻後以 1 ml 針筒裝上 18G 針頭分注 0.3 ml MethoCult™ 至 24 well 中，分別加入不同濃度 0.1 μg/μl，0.5 μg/μl，2.5 μg/μl，10 μg/μl 之中藥 3 μl，用膠帶固定上蓋以震盪器混合 2 min 之後在 24 well 周圍加入無菌水於 37℃，5% CO_2 培養 14 天後，觀察紀錄藥物劑量多寡對於細胞生長與群落之型態影響。

四、體外幹原/前驅細胞之體外培養及分析系統：

造血性幹原/前驅細胞分離與培養：將抽取之臍帶血離心，以 ficoll paque 分離取 buffy coat 層中的低懸浮密度細胞，並以 10μM ammonium chloride 溶解法除去紅血球。加上 SCF, TPO, IL-3. IL-6, Flt-3L 等細胞激素，在基底細胞共同培養系統中，培養 9 天後。將懸浮性血球細胞收集於 1XPBS 中，加入欲觀測表面分子的單株抗體，避光培養後。利用流式細胞儀觀察特定表面分子被標定細胞，使用 fluorescence-activated cell sorting (FACS-Calibus; Becton Dickinson) 以及 CellQuest software 進行定量分析。自體外培養的臍帶血球細胞抽取 total RNA, 以反轉錄酵素合成互補 DNA，使用基因特異性引子進行 PCR 反應以分析基因表現量。

五、脂肪間質幹原/前驅細胞：

我們收集外科整形去除的脂肪組織，經過膠原蛋白酶與核苷酸酶作用後，收集附著於培養皿之細胞，培養至定量細胞數後，以單一細胞分離技術挑選單一細胞，培養增殖成一穩

定細胞株。除了利用免疫螢光染色分析細胞表面特定表達之抗原標記組成外，並利用分化誘導劑測試其多潛能特性。

六、間質葉幹細胞之神經前驅細胞分化：

我們利用已建立單一選殖株之間質葉幹細胞方法，培養穩定之幹細胞來源，在神經細胞分化培養基中，依不同種類加入不同劑量之欲檢測中藥化合物，觀察幹細胞中神經前驅細胞早期、晚期所表達標記蛋白之產生與變化。

七、基因微陣列分析藥物調控基因與細胞功能調節之相關性:

將待測中藥萃取物與脂肪間質幹原/前驅細胞共同培養三天後，再以γ-ray 放射線照射處理脂肪間質幹原/前驅細胞。收集細胞並抽取製備 RNA，先利用 RT-PCR 檢測分析其參與細胞生長、細胞週期、細胞分化、細胞凋亡等作用的基因後，再將其 RNA 利用反轉錄酶以螢光標定其細胞所表現之基因訊息後，使用 Agilent cDNA microarray 進行 dye-swap 法雜交結合反應後，利用 Genepix scanner 掃讀分析後，以 Acuity 3.1 軟體分析比較基因表現型的種類差異及定量分析。

八、免疫抗體蛋白晶片檢測:

將待測中藥萃取物與脂肪間質幹原/前驅細胞共同培養三天後，再以γ-ray 放射線照射處理脂肪間質幹原/前驅細胞。收集細胞培養基後，利用細胞激素抗體蛋白晶片，分析培養基樣本中的細胞激素、細胞趨化激素、細胞生長及凋亡調控因子等蛋白的種類及定量變化。蛋白晶片整合分析後再進一步以 ELISA 定量分析及濃度測定。

參、結果

採購單複方藥材或由藥檢局供藥材後，以熱水配置三七、何首烏、四物湯、補中益氣湯、生脈散的萃取液，將萃取物濃縮後回溶於無菌水中，取不同濃度與造血幹細胞或間葉幹細胞培養，觀察細胞生長及分化活性之變化以鑑定其藥效。

一、補益類中藥對臍帶血細胞中血球群落生成之影響

(一)補益類複方中藥(補中益氣湯、生脈散及四物湯)

針對補中益氣湯、生脈散及四物湯等複方天然藥材，利用 24 well 體外群落培養初篩分析(*In Vitro* Colony Formation Assay)。觀察群落的數量和大小來評估藥物對於早期造血幹原/前驅細胞的影響。由圖一結果顯示，四物湯可促進紅血球系及髓性血球細胞系群落生長數量，其中尤其是以晚期紅血球群落(CFU-E)及顆粒性血球細胞系群落(CFU-G)作用最為明顯，由此結果顯示四物湯對特定造血幹細胞具有促進生成之藥效。而生脈散則對單核系細胞群落(CFU-M)及顆粒性血球細胞系群落(CFU-G)有較為明顯的促進性(圖二)，但是對於紅血球系群落數量並無明顯影響。由圖三群落形成結果顯示補中益氣湯對成熟性爆增型紅血球及單核系細胞群

落(Mature BFU-E and CFU-M)的形成有促進生成的效用。綜合上述初篩選分析結果初步判定，上述三種補益類複方中藥對特定造血幹細胞都具有促進生成之藥效，但是所影響的細胞群落種類各不相同，因此於療效方面各有不同之應用。

(一)補益類單方中藥(三七及何首烏)

此外亦針對三七及何首烏等單方天然藥材，分析其對於早期造血幹原/前驅細胞生長分化的影響。將臍帶血球細胞以γ-ray 放射線(100 rad)處理，同時分別於照射前或照射後加入不同劑量的三七萃取物培養，14 天後統計分析結果(如圖四所示)，三七水萃成分可明顯促進紅血球系母細胞的生長分化(圖四 A, 三七-(-)組， 比較 0 , 17.5 及 50 μg/ml) ；於放射線處理前加入較高劑量的三七可提高紅血球群落生成數量(圖四 A, 三七/100 rad 組， 比較 0 μg/ml 及 50 μg/ml)，由此結果推測三七水萃成分可保護紅血球生成系的前驅細胞，減少放射線對此類細胞的傷害；於放射線處理後加入較低劑量的三七可提高紅血球群落生成數量(圖四 A, 三七/100 rad 組， 比較 0 μg/ml 及 17.5 μg/ml)，由此結果推測三七水萃成分可修復放射線對紅血球生成系前驅細胞的傷害。於顆粒性白血球群落生成方面，三七水萃成分有保護或修復放射線對顆粒性白血球前驅細胞的傷害(圖四 B, 三七/100 rad 組及 100 rad/三七組)。測試生何首烏 (未經炮製)及製何首烏 (炮製後)水萃取液，分析其對於早期造血幹原/前驅細胞生長分化的影響。結果如圖五所示，製何首烏水萃成分對早期前驅細胞(CFU-GEMM), 紅血球系前驅細胞(CFU-E+BFU-E)及髓性細胞系前驅細胞(CFU-GM+CFU-M)均有促進生成的效果, 尤其是對紅血球系前驅細胞及髓性細胞系前驅細胞的加強作用呈現 dose-dependent 現象。反之，生何首烏不但沒有加強作用，反而對紅血球系前驅細胞呈現毒性作用。

二、補益類中藥對間葉幹細胞增殖及分化的影響

(一) 補益類中藥對臍帶間葉幹細胞增殖及神經分化的影響(生脈散、四物湯、補中益氣湯及三七)

已針對生脈散、四物湯、補中益氣湯及三七等單複方天然藥材，探討對臍帶基質間葉幹細胞生長能力之影響，分別加入不同劑量之萃取物於細胞培養液中，於 37℃培養五天後，再以 tryphan blue 染色計算存活細胞數量(圖六)，初步結果顯示低劑量的生脈散、四物湯萃取物對臍帶基質間葉幹細胞有少量促進生長之能力，而高劑量的川七萃取物對臍帶基質間葉幹細胞有少量促進生長之能力。

進一步探討上述藥材萃取物，對促進臍帶基質間葉幹細胞趨向於神經性細胞分化能力之影響性。先將臍帶基質間葉幹細胞培養於誘導培養基三天後，再改用分化培養基及不同劑量之萃取物於 37℃培養五天後，觀察細胞形態，發現於上述藥材萃取及分化培養基的刺激下，都有促使臍帶基質間葉幹細胞分化成為神經性細胞形態之趨勢(圖七)。進一步以 RT-PCR 檢測神經分化性基因表達特性，確認經上述藥材萃取物及分化培養基刺激後的臍帶基質間葉幹細胞均可表達神經性基因 NF-M(圖八)，其中低劑量三七萃取物可進一步的

刺激表達 NCAM。再以 tryphan blue 染色計算存活細胞數量。一般而言在體外神經性細胞分化實驗中，基質間葉幹細胞趨向於神經性細胞分化後會伴隨細胞凋零死亡，由圖九結果顯示，生脈散、四物湯及三七等萃取物都有降低神經分化性細胞死亡之趨勢。由此結果推論生脈散、四物湯及三七等中藥萃取物，不會影響臍帶基質間葉幹細胞的神經性分化特徵，同時具有延長神經分化性細胞存活率的藥效。

進一步分離純化出三七的有效成分後，並以化學合成法產生的三七合成衍生物稱為 QFA15。欲測試 QFA15 對成體頭皮間葉幹細胞生長的影響(圖十)，將 QFA15 加入生長培養基中(圖十，QFA15+high serum)，再與生長培養基的控制組比較(ctrl)，發現兩者細胞增殖倍數之斜率差異不大，當降低生長培養基中的血清含量(QFA15+low serum)，也不會降低細胞增殖潛能，由此結果推論三七合成衍生物 QFA15 也許可以作為間葉幹細胞培養基的血清或細胞生長相關因子的替代品。

探討 QFA15 對神經細胞分化的影響，將 QFA15 加入頭皮間葉幹細胞之分化培養基中刺激神經性分化後，收取細胞分析神經細胞專一性基因之表現(圖十一)，發現頭皮間葉幹細胞在受到分化培養基刺激時會表現 MAP2、NFM 及 NCAM 等神經細胞基因，其中 MAP2 為有突觸的神經元細胞所專一性表現之基因。當加入 QFA15 後，頭皮細胞仍會表現 NFM 基因，但是 MAP2 及 NCAM 基因表現量顯著的降低，反之神經膠原細胞專一性表現之基因 GFAP 則會升高，由此結果推論，QFA15 可促進成體頭皮間葉細胞趨向於神經膠原細胞之分化。並可能有抑制腦神經腫瘤轉移之作用。

（二）補益類中藥脂肪間葉幹細胞的硬骨及軟骨分化之影響

探討何首烏萃取物，對促進脂肪間葉幹細胞趨向於軟、硬骨細胞分化能力之影響性。將脂肪間葉幹細胞分別培養於軟、硬骨分化培養基中，加入不同劑量的何首烏萃取液培養 10 天後，以鈣沉澱定量分析法比較(圖十二)，高劑量之製何首烏有顯著促進硬骨分化之功能，生何首烏與控制組比較無明顯差異；另外以軟骨球形成數量分析(圖十三)，高劑量之製何首烏有少許促進軟骨分化之功能，反之生何首烏可能具有毒性作用。

三、利用基因微陣列晶片，研究中藥在癌症療程的放射性損傷中，所調節之細胞之藥理基因分析。

(一)補益類複方中藥－補中益氣湯

補中益氣湯的療效為調補脾胃，增強體力、抵抗疾病、病後補養、改善易體質。探討補中益氣湯於癌症放射線療程中，保護成體幹原/前驅細胞的藥理性基因體分析。先將補中益氣湯(250 μg/ml)與脂肪間葉幹細胞培養三天後，再以低劑量γ-ray(300 rad)放射線照射處理並培養三天後，收集細胞 RNA，以 Dye-Swap 實驗設計分別標幟控制組及實驗組細胞所表現的基因後，再與 cDNA microarray 進行雜合反應(圖二十)及定量分析，根據基因功能分類後，其結果整理於表一。(1)脂肪間葉幹細胞受低劑量γ-ray 放射線傷害後導致增加一些致癌基因

或特定腫瘤抗原的表現量(見表一之二)，反之若先加補中益氣湯培養，則可增加特定腫瘤抑制基因的表現量(見表一之一)；(2) 補中益氣湯刺激受放射線傷害的脂肪間葉幹細胞分泌 NAP2，提高 IL8 表現量及降低 leptin 等基因表現量，此核酸微陣列分析結果與蛋白微陣列分析結果一致(見表一之一，表二及圖十四)。(3)未與補中益氣湯培養的脂肪間葉幹細胞，在受到放射線傷害後則表現較高量 HGF 受體，EGF 受體及 estrogen 受體基因，目前已知這些受體的過量表現與癌化過程相關。

（二）補益類單方藥材－三七

將三七(50 μg/ml)與脂肪間葉幹細胞培養三天後，再以高劑量γ-ray(900 rad)放射線照射處理並培養三天後，收集細胞 RNA，以 Dye-Swap 實驗設計分別標幟控制組及實驗組細胞所表現的基因後，再與 cDNA microarray 進行雜合反應(圖二十)及定量分析，根據基因功能分類後，其結果整理於表二。(1)脂肪間葉幹細胞受高劑量γ-ray 放射線傷害後，不論是否有先加三七處理，亦有增加致癌基因或腫瘤抗原的表現量(見表二之一及二之二) (2) 三七可刺激於放射線傷害的脂肪間葉幹細胞有促進產生 TNF 結合子或 TNF 受體基因的表現現象(見表二之一)。(3)相對而言，三七可刺激放射線傷害之脂肪間葉幹細胞加強表現較多種類的細胞外間質(extracellular matrix)、細胞骨架(cytoskeleton)、細胞分化及離子通道(ion channel)等相關基因。本組試驗中控制組與實驗組的基因表現量差異不大。可能是因細胞已受到高劑量放射線傷害導致細胞生理代謝活動力減弱，或是三七對於成體間質幹細胞沒有明顯的直接保護效用。

四、利用細胞激素蛋白微陣列，探討補益中藥所誘導產生細胞蛋白激素之功能性基因體藥理。

(一)補益類複方中藥－補中益氣湯

實驗組先將補中益氣湯(250 μg/ml)與脂肪間葉幹細胞培養三天後，再以低劑量γ-ray(300 rad)放射線照射處理；控制組則祇有以低劑量γ-ray(300 rad)放射線照射處理。培養三天後，收集細胞培養液，以細胞激素抗體微陣列分析比較分泌的細胞激素，結果如圖十四所示，脂肪間葉幹細胞在受到低劑量放射線傷害後導致分泌多種與發炎反應有關的趨化激素(例如:ENA78、GRO、MIP-1α、MIP-1β、MIP-3β、PARC、RANTE)，相對的先經過補中益氣湯培養處理的細胞則顯示更進一步刺激分泌 GROα,GCP-2 及 NAP2 等趨化激素(表三)。

（二）補益類單方藥材－三七

實驗組先將三七水萃液(50 μg/ml)與脂肪間葉幹細胞培養三天後，再以高劑量γ-ray(900 rad)放射線照射處理；控制組則祇有以高劑量γ-ray(900 rad)放射線照射處理。培養三天後，收集細胞培養液，以細胞激素抗體微陣列分析比較分泌的細胞激素，結果如圖十五所示，

脂肪間葉幹細胞在受到高劑量放射線傷害後，除了 GRO 之外不會分泌與發炎反應有關的趨化激素，相對的導致分泌如調節神經生長分化的 BDNF，血球細胞生長的 G-CSF 等生長激素。而先經過三七培養的細胞則可更進一步刺激分泌調節血管形成的 Angiopoietin-2 再生因子 (表三)。

將細胞蛋白激素微陣列之訊息數量化後進行比較。發現成體脂肪間葉幹細胞可分泌 IL-6、IL-8、MCP-1 等存活、再生之細胞激素，但是高放射線(900 rad)會降低上述激素的表現量，顯示細胞傷害已達無法修復狀態。

高放射線傷害也會明顯降低 TIMP1 及 TIMP2 的表現量(圖十六)。組織基質金屬蛋白酶抑制蛋白(**TIMP**)可阻斷組織基質受基質金屬蛋白酶(matrix metalloproteinases, **MMPs**)破壞，趨使新血管無法生成及阻止腫瘤轉移。因此 TIMP 的表現量降低可能有助於血管新生但也同時有可能促進腫瘤轉移。此外在受到放射線照射後會產生 Angiogenin、GRO、HGF 等細胞激素(圖十七)，此三種細胞激素除了有各自特異性的活性功能之外，其共同的類似功能為參與血管生成作用。相對的如 Leptin, PARC, RANTES, TNFα, ENA-78, Fas, GROα, MIP-1α, -1β, -3β, VEGF, VEGF-D 等細胞激素只有在受低劑量γ-ray 刺激時才會產生，這些細胞激素可能參與發炎反應，組織修復再生等作用；反之，高劑量γ-ray 並不會刺激參與發炎反應的相關細胞激素，則只會刺激細胞產生 BDNF, G-CSF 等細胞激素(圖十七續)。BDNF 可調節神經性細胞的生長分化，G-CSF 可促進骨髓大量增殖造血性幹細胞並移行至全身循環系統中。因此經比對成體間葉幹細胞受高/低劑量放射線處理後所產生的細胞激素種類，可推論成體受到可逆性(低劑量放射線)及不可逆性(高劑量放射線)傷害後，成體間葉幹細胞可因應細胞受損程度對其它細胞組織產生 cross-talk 以達到修復再生之功能。

脂肪間葉幹細胞無論是受到高/低放射線劑量傷害時，不論是加入補中益氣湯或三七均可加強的包括有 Angiopoietin-2 及 GROα。然而如 GCP-2、NAP-2 及 TNFα等唯有在補中益氣湯保護處理時才會提高蛋白表現量(圖十八)。

本計劃申請後審核委員建議以 ELISA 檢測如 LIF 及 BMP4 蛋白表現量。但是以 RT-PCR 先行偵測 LIF 及 BMP4 基因表現量(圖十九)，發現無論是受到高/低劑量的放射線傷害均不會明顯影響 LIF 及 BMP4 的基因表現量，加入補中益氣湯也無明顯影響，加入三七反而降低 LIF 及 BMP4 的基因表現量。因而未再進一步以 ELISA 檢測 LIF 及 BMP4 蛋白表現量。

肆、討論

由過去對四物湯的療效研究發現，其複方中的熟地黃、當歸補血養陰為主藥；白芍養血柔肝為輔藥；川芎活血行氣為佐藥。地黃有止血作用，其乙醇提取物可縮家兔凝血時間。當歸有抗貧血作用，可能與其所含維生素 B12、菸鹼酸及葉酸有關。川芎浸膏抑制家兔或正常人血小板凝聚作用，因此可增加本方之活血作用。此外白芍、川芎均有較明顯之鎮靜、解痙作用。綜視全方，四物湯既有補血作用，又有活血、止血及調經效能。由本研究中則進一步發現，四物湯作用於臍帶血幹細胞中時，有促進晚期紅血球群落(CFU-E)生成的效用，因此未來研究可分析四物湯中促進晚期紅血球群落(CFU-E)生成與活血或抗貧血的有效成份及作用

機制，將可應用於病後補養加強癒療效果。

生脈散目前為普遍使用於治療中暑、心臟衰竭的病患。由國內多家研究單位的試驗發現，生脈散有擴張血管、降低周邊阻力的功效，對心臟衰竭患者提供連續治療，結果患者肥大的心臟明顯縮小，且沒有毒性副作用。於本研究中的初步成果則發現生脈散對於臍帶血球細胞的生長，有相當於細胞生長因子功能的增殖效果，特別是在研究結果中發現其細胞週期/凋亡調控基因及早期幹細胞基因的表達量，都未因生脈散萃取液處理而有明顯差異，由此可推論生脈散具調節細胞生長之效用，但不會改變調控細胞生長或分化等正常功能，因此對癌症患者而言將是較安全的癒後輔助療法。但是其有效成份及其如何影響幹細胞之生長分化活性則仍待進一步探討。

補中益氣湯的療效為調補脾胃，增強體力，抵抗疾病，病後補養，改善易感冒體質，增強免疫能力。脾臟是胎兒時期主要的造血器官，於成人則是轉變為儲存血液的器官及負責分解老化的紅血球，回收鐵質並經由血液運送到骨髓造血組織再利用。脾臟同時也是人體最大的淋巴器官，負責過濾外來的有害物質。於本研究中發現補中益氣湯對於早期幹細胞生長增殖並無明顯影響，但是可促進成熟型爆增性紅血球及單核系細胞群落(Mature BFU-E and CFU-M)的生成。此結果相互映證補中益氣湯對造血幹細胞的影響符合對活體組織生理的療效。本研究計劃中亦發現成體脂肪間葉細胞於受到低劑量放射線傷害時，補中益氣湯有調節參與發炎反應之趨化激素的表現種類及表現量。此外補中益氣湯亦可增加特定腫瘤抑制基因及減少特定致癌基因或相關生長因子受體表現。因此推論補中益氣湯非常適合接受放射線療法的癌症病人使用。

何首烏為蓼科植物何首烏 (Polygonum multiflorum Thunb) 的乾燥塊根。多系野生。製(炙)首烏性味苦、甘、澀、性溫。歸肝、心、腎經。生何首烏功能解毒、消癰、潤腸通便。製(炙)首烏能補肝腎養肝、益精血、烏鬚髮、強筋骨。在炮製作用中，製(炙)首烏經黑豆汁拌蒸後，味變甘後功能滋陰補腎，養肝益血，烏鬚髮。多用於血虛萎黃，眩暈耳鳴，鬚髮早白，腰膝酸軟等症。於本研究計劃中發現製何首烏水萃成分對早期前驅細胞(CFU-GEMM), 紅血球系前驅細胞(CFU-E+BFU-E)及髓性細胞系前驅細胞(CFU-GM+CFU-M)均有促進生成的效果, 尤其是對紅血球系前驅細胞及髓性細胞系前驅細胞的加強作用呈現 dose-dependent 現象；高劑量之製何首烏有顯著促進硬骨分化之功能；另外高劑量之製何首烏有少許促進軟骨分化之功能。反之生何首烏對紅血球系前驅細胞及軟骨細胞的分化呈現毒性作用，由此推論在何首烏的炮製過程中可去除生何首烏之毒性分子同時促進有效成分之活化。

三七(又稱為田七、人參三七) 根據李時珍在【本草綱目】中記載三七為甘微苦，溫，無毒。止血，散血，定痛。金刃箭傷，跌撲杖瘡，血出不止者，嚼爛塗，或為末摻之，其血即止。亦主吐血，衄血，下血，血痢，崩中，經水不止，產後惡血不下，血運，血痛，赤目，癰腫，虎咬，蛇傷諸病。本研究計劃中亦發現三七水萃成分可保護及修復受放射線傷害的紅血球及顆粒性血球生成系之前驅細胞的增殖分化能力。

三七組成份中含有多種達瑪烷型四環五帖皂苷的活性成分，和人蔘皂苷相類似。三七中亦含有天門冬胺酸、谷胺酸、精胺酸等十六種胺基酸，根還含抗癌多炔成分即人蔘三炔三醇。根的揮發油中含 α- 和 γ- 依蘭油烯、香附子烯等多種成分。尚含黃酮類化合物，具有活

性阿拉伯半乳聚醣及三七多醣。又含鐵、銅、錳、鈷、鋅、鎳、釩、鉬、氟等無機元素。其中人蔘皂苷 Re 和 Rg1 可以促進因外科手術受損中正常組織的血管增生，並增進傷口癒合的速度；本研究計劃中亦發現受高劑量放射線傷害的成體脂肪間葉細胞受三七刺激後可分泌 Angiopoietin 2，Angiopoietin 2 功能主要是在血管重組過程中，協調 VEGF 及 Angiopoietin 1 的血管再生促進功能，以達到組織再生時血管新生的現象。

三七對神經系統作用的藥理實驗和臨床應用證明，三七根總皂苷具有較強的鎮痛作用。研究已證明，三七地上部分含人參二醇型皂苷 ，對中樞神經有一定的抑制作用，因而具有鎮靜、安定、催眠的作用。三七地下部分含有較多的人參三醇型皂苷，如 Rb1，對中樞神經有興奮作用，能提高腦力和體力活動，因而具有抗疲勞、提高學習和記憶能力的作用。三七中的三七皂苷 Rd ，可以誘導星狀神經細胞原的分化和生長， 可以延緩大腦中的神經母細胞的死亡，並延緩阿茲海默症的發生，即老年癡呆症的發生。Rb1 和 Rg1 延緩釋放神經傳導物質多巴胺的神經細胞的老化，減少麩胺酸在大腦的沉積。Re 和 Rg1 可以降低因 MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) 所引起對神經細胞永久的傷害，進而造成的帕金森氏症。 Rg1 可以增加神經細胞中抗氧化的基因表現，減少神經因自由基的傷害，所造成的阿茲海默症發生的機率。Rb1 和 Rg1 可以保護受傷的神經，免於自由基的二度傷害，並可以輔助脊椎受傷的患者復健。三七中脂溶性的有效成分 Panaxynol 可以通透血腦障壁以調節神經生長因子誘發的神經突形成，以降低帕金森氏症和阿茲海默症的發生率。本研究計劃中亦發現三七有促使臍帶基質間葉幹細胞分化成為神經性細胞形態之趨勢，同時具有延長神經分化性細胞存活率的藥效。

伍、結論與建議

本研究計劃之執行成果歸納如下:

一、補益類複方中藥:

(一) 補中益氣湯: 對成熟性爆增型紅血球及單核系細胞群落(Mature BFU-E and CFU-M)的形成有促進生成的效用。以 cDNA 基因微陣列分析發現(1)脂肪間葉幹細胞受低劑量 γ-ray 放射線傷害後會增加致癌基因或腫瘤抗原的表現量，反之若先加補中益氣湯培養，則可增加腫瘤抑制基因的表現量；(2) 補中益氣湯可刺激受放射線傷害的脂肪間葉幹細胞分泌 NAP2，提高 IL8 表現量及降低 leptin 表現量，此核酸微陣列分析結果與蛋白微陣列分析結果一致。(3)未與補中益氣湯培養的脂肪間葉幹細胞，在受到放射線傷害後會表現較高量 HGF 受體，EGF 受體及 estrogen 受體基因，目前已知這些受體的過量表現與癌化過程相關。以細胞激素蛋白陣列分析發現，脂肪間葉幹細胞在受到低劑量放射線傷害後會分泌多種與發炎反應有關的趨化激素(例如:ENA78、GRO、MIP-1α、MIP-1β、MIP-3β、PARC、RANTE)，先經過補中益氣湯培養的細胞

則可更進一步刺激分泌 GCP-2 及 NAP2 等趨化激素

(二) 生脈散: 對單核系細胞群落(CFU-M)及顆粒性血球細胞系群落(CFU-G)有較為明顯的促進性。生脈散不會改變臍帶基質間葉幹細胞的神經性分化特徵，同時具有延長神經分化性細胞存活率的藥效。

(三) 四物湯: 可促進紅血球系及髓性血球細胞系群落生長數量，其中尤其是以晚期紅血球群落(CFU-E)及顆粒性血球細胞系群落(CFU-G)作用最為明顯。四物湯不會改變臍帶基質間葉幹細胞的神經性分化特徵，同時具有延長神經分化性細胞存活率的藥效。

二、補益類單方藥材

(一) 三七: 可修復放射線對紅血球生成系前驅細胞的傷害，以及保護或修復放射線對顆粒性白血球前驅細胞的傷害。低劑量三七萃取物可進一步的刺激表達神經細胞性基因如 NF-M 及 NCAM 的表達，同時不會改變臍帶基質間葉幹細胞的神經性分化特徵及具有延長神經分化性細胞存活率的藥效。以細胞激素蛋白陣列分析發現，脂肪間葉幹細胞在受到高劑量放射線傷害後，除了 GRO 之外不會分泌與發炎反應有關的趨化激素，但是會分泌如調節神經生長分化的 BDNF，血球細胞生長的 G-CSF。而先經過三七培養的細胞則可更進一步刺激分泌調節血管形成的 Angiopoietin-2。

(二) 三七合成衍生物 QFA15，三七合成衍生物 QFA15 具有作為間葉幹細胞培養基的血清或細胞生長相關因子的替代品之潛能；此外，QFA15 可促進成體頭皮間葉細胞趨向於神經膠原細胞之分化。

(三) 製何首烏: 製何首烏水萃成分對早期前驅細胞(CFU-GEMM), 紅血球系前驅細胞(CFU-E+BFU-E)及髓性細胞系前驅細胞(CFU-GM+CFU-M)均有促進生成的效果, 尤其是對紅血球系前驅細胞及髓性細胞系前驅細胞的加強作用呈現 dose-dependent 現象。高劑量之製何首烏有顯著促進成體間葉幹細胞分化成為軟、硬骨之功能。而何首烏的炮製過程中可去除生何首烏之毒性分子同時促進有效成分之活化。

於本研究中所建立的中藥對幹細胞影響之分析系統，未來將可應用於中藥有效成分及藥物篩選平台，並發展成為有效成份鑑定及品管技術。由本研究計畫成果，各種補益類單複方中藥有不同的促進造血性或間葉幹細胞增殖或分化之功能，但因補助經費受限，本計劃僅能完成補中益氣湯及三七的相關基因及功能性基因體研究，來若未來可獲得更多資源及經費投入，將可進一步開發成醫療或商業用途，並有助於中藥之國際化發展。

致謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會(計畫編號 CCMP94-RD-044)提供經費贊助，使本計畫順利完成，特此致謝。

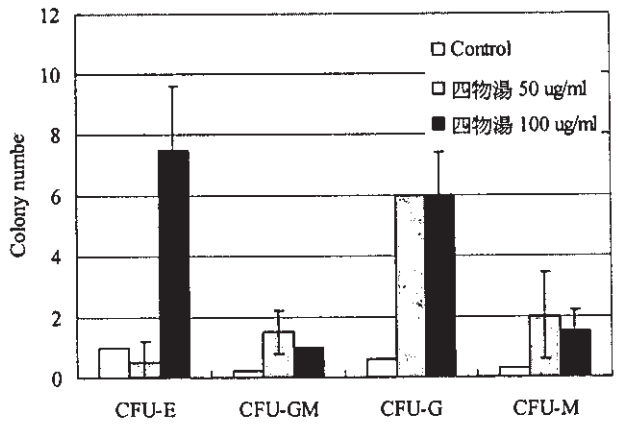
陸、參考文獻

1. Bao Y, Li C, Shen H, Nan F. (2004) Determination of saikosaponin derivatives in Radix bupleuri and in pharmaceuticals of the chinese multiherb remedy xiaochaihu-tang using liquid chromatographic tandem mass spectrometry. Anal Chem. 76:4208-16.
2. Chan K, Chui SH, Wong DY, Ha WY, Chan CL, Wong RN. (2004) Protective effects of Danshensu from the aqueous extract of Salvia miltiorrhiza (Danshen) against homocysteine-induced endothelial dysfunction. 75:3157-71.
3. Daniel Tzu-Bi Shih. The Loss of BFU-E Colony Forming Potential in *Ex Vivo* Expansion of Hematopoietic CD34+ Progenitors Studied by 2D Electrophoretic Proteomic Analysis. 海峽兩岸細胞生物學學術研討會, 武漢大學, May 16~18, 2001. (Oral Presentation)
4. Daniel Tzu-Bi Shih. A Human Stem/Progenitor Cells Culture System for Proteomic Studies of Normal Erythropoiesis and Disorders. 16th FAOBMB Symposium. September 21, 2002. (Oral Presentation)
5. Daniel Tzu-Bi Shih. An Erythropoiesis Culture System for Studying Neo-Vascularization & Erythropoietic Disorders. The 10th Sino-Japan Symposium on Cancer Treatment: Somatic Stem Cells/Regenerative Medicines. January 11, 2003. (Oral Presentation)
6. Daniel T.-b. Shih. Shih-Chen Chen. Siou-Chen Shih. Yi-Ning Chen. Chun-Sen Hsu.(2004) A Pharmacologic Evaluation of Chinese Herbs' Function Using Human Tissue Stem/Progenitor Cell Culture: (I) Radix Panacis Quinquefolii, Radix Astragali, Radix Notoginseng and Semen Goicis, Radix Bupleuri and Rhodiola kirilowii. 第七屆工程科技與中西醫藥應用討會
7. Fujii Y. Imamura M. Han M. Hashino S. Zhu X. Kobayashi H. Imai K. Kasai M. Sakurada K. Miyazaki T. (1994) Recipient-mediated effect of a traditional Chinese herbal medicine, ren-shen-yang-rong-tang (Japanese name: ninjin-youei-to), on hematopoietic recovery following lethal irradiation and syngeneic bone marrow transplantation. International Journal of Immunopharmacology. 16(8):615-22.
8. Hsu HY. Ho YH. Lin CC. (1996) Protection of mouse bone marrow by Si-WU-Tang against whole body irradiation. *Journal of Ethnopharmacology.* 52(2): 113-7.
9. Lin SJ, Tsai JH, Tsai CH, Lin YC, Hsu HT, Xu FL, Yang CC. (2004) The in vivo effects of cytokines modulation for BALB/C mice fed with a traditional combined chinese herb-soaked solution, Yi-Fey Ruenn-Hou tea. Immunopharmacol Immunotoxicol. 26:435-44.
10. Shih-Chen Cen, Bo-Shun Su, Chen-Yi Wu, Chien-Ting Huang and Daniel Tzu-Bi Shih. A Proteomic Characterization of Early-Stage Erythropoietic Differentiation in Human Hematopoieitc (CD34+) Progenitors. The 44rd Annual Meeting of The American Society of Hematology. Orlando, Florida, December 06~10, 2002. (Abstract)
11. Siu KM, Mak DH, Chiu PY, Poon MK, Du Y, Ko KM. (2004) Pharmacological basis of 'Yin-nourishing' and 'Yang-invigorating' actions of Cordyceps, a Chinese tonifying herb. Life Sci. 76(4):385-95.
12. Yi YD, Chang IM. (2004) An Overview of Traditional Chinese Herbal Formulae and a Proposal of a New Code System for Expressing the Formula Titles. Evid Based Complement Alternat Med. 1:125-132.
13. Zhu YZ, Huang SH, Tan BK, Sun J, Whiteman M, Zhu YC. (2004) Antioxidants in Chinese herbal medicines: a biochemical perspective. Nat Prod Rep.21:478-89.
14. Huang YC , Chen CT , Chen SC , Lai PH , Liang HC , Chang Y , Yu LC , Sung HW . (2005) A

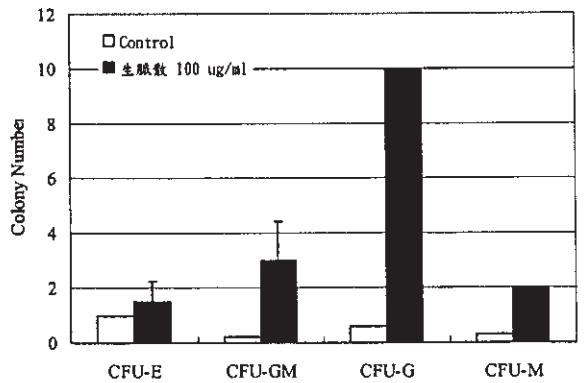
natural compound (ginsenoside Re) isolated from *Panax ginseng* as a novel angiogenic agent for tissue regeneration. Pharm Res. 2005 Apr;22(4):636-46. Epub 2005 Apr 7.

15. Qin Shi, Qi Hao, Julien Bouissac, Yang Lu, Songjiu Tian and Bang Luu .(2005)Ginsenoside-Rd from Panax notoginseng enhances astrocyte differentiation from neural stem cells. Life Sciences, Volume 76, Issue 9, 14 January 2005 , Pages 983-995
16. Liao B , Newmark H , Zhou R . (2002) Neuroprotective effects of ginseng total saponin and ginsenosides Rb1 and Rg1 on spinal cord neurons in vitro. Exp Neurol. 2002 Feb;173(2):224-34.
17. Wang ZJ , Nie BM , Chen HZ , Lu Y . (2005) Panaxynol induces neurite outgrowth in PC12D cells via cAMP- and MAP kinase-dependent mechanisms. Chem Biol Interact. 2005 Oct 8
18. Nie BM, Yang LM, Fu SL, Jiang XY, Lu PH, Lu Y.(2006)Protective effect of panaxydol and panaxynol on sodium nitroprusside-induced apoptosis in cortical neurons.Chem Biol Interact. 2006 Apr 15;160(3):225-31. Epub 2006 Mar 10.

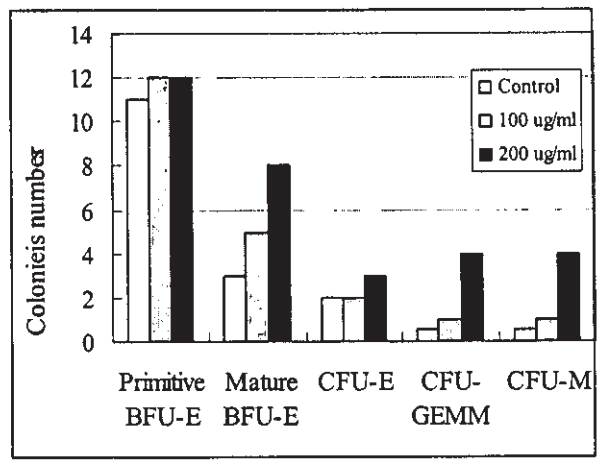
柒、圖、表



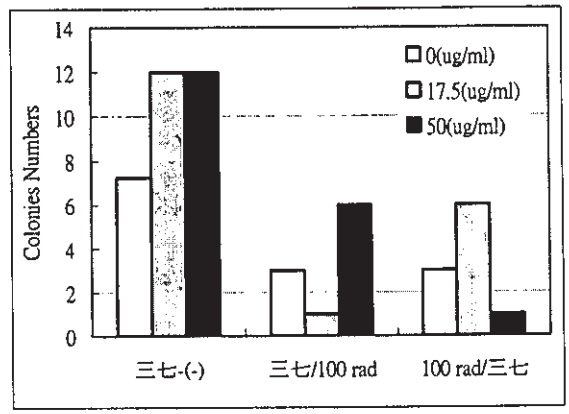
圖一、四物湯對於血球群落生成之影響



圖二、生脈散對於血球群落生成之影響



圖三、補中益氣湯對於血球群落生成之影響



組別說明:

控制組

三七-(-):加三七萃取液，未經放射線處理

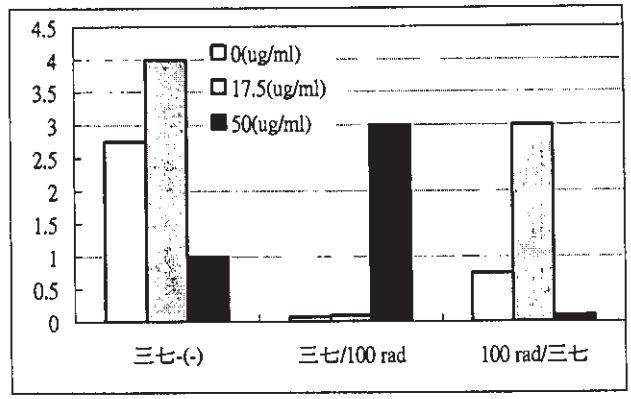
保護功能實驗組

三七/100 rad:先加三七萃取液培養三天後，再以 100 rad γ-ray 放射線處理。

修復功能實驗組

100 rad /三七:先以 100 rad γ-ray 放射線處理後，再加三七萃取液培養

圖四(A)、三七水萃液對放射線傷害之造血前驅細胞的保護/修復功能
-紅血球群落生成數量分析(BFU-E+CFU-E)



組別說明:

控制組

三七-(-):加三七萃取液，未經放射線處理

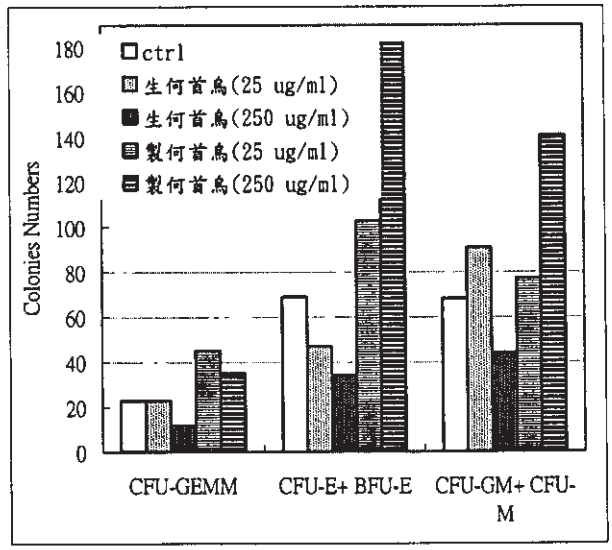
保護功能實驗組

三七/100 rad:先加三七萃取液培養三天後，再以 100 rad γ-ray 放射線處理。

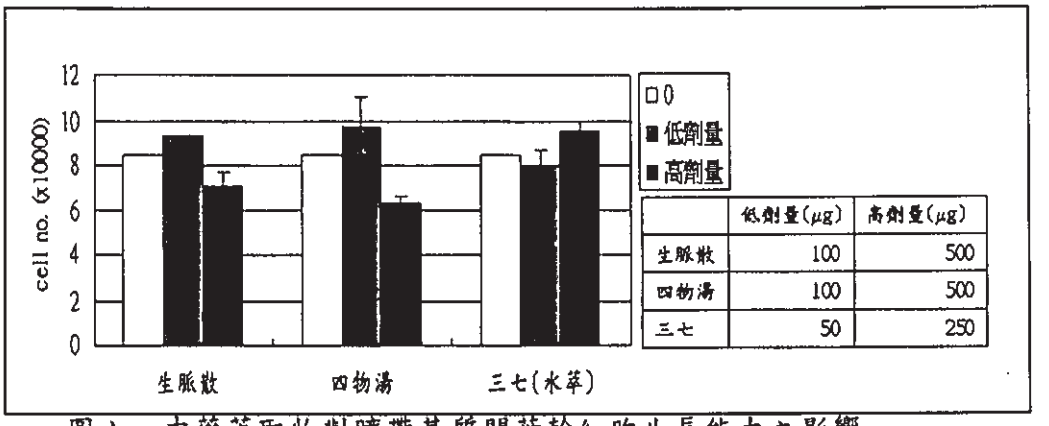
修復功能實驗組

100 rad /三七:先以 100 rad γ-ray 放射線處理後，再加三七萃取液培養

圖四(B)、三七水萃液對放射線傷害之造血前驅細胞的保護/修復功能
-顆粒性白血球群落生成數量分析(CFU-G)

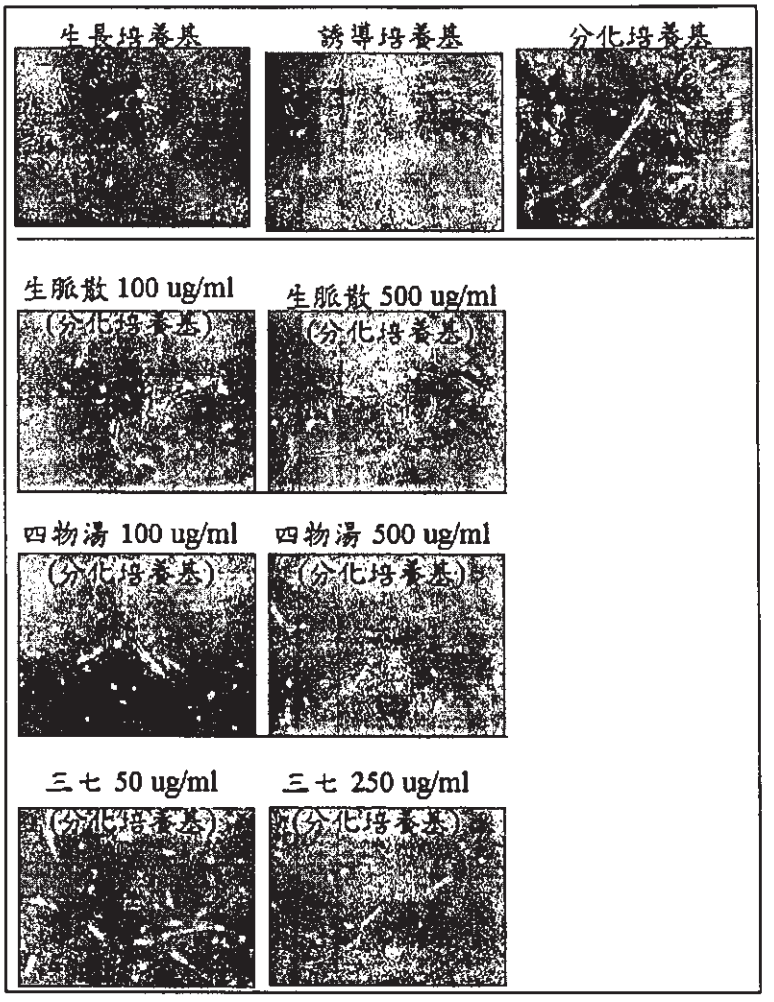


圖五、何首烏水萃液對於臍帶血血球群落生成之影響

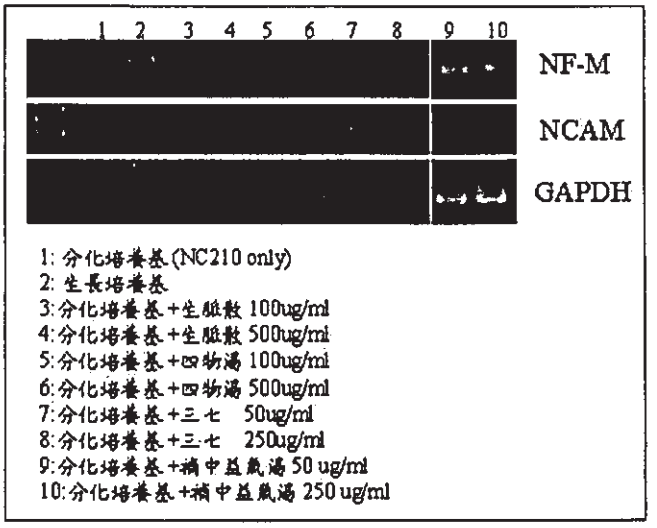


	低劑量(μg)	高劑量(μg)
生脈散	100	500
四物湯	100	500
三七	50	250

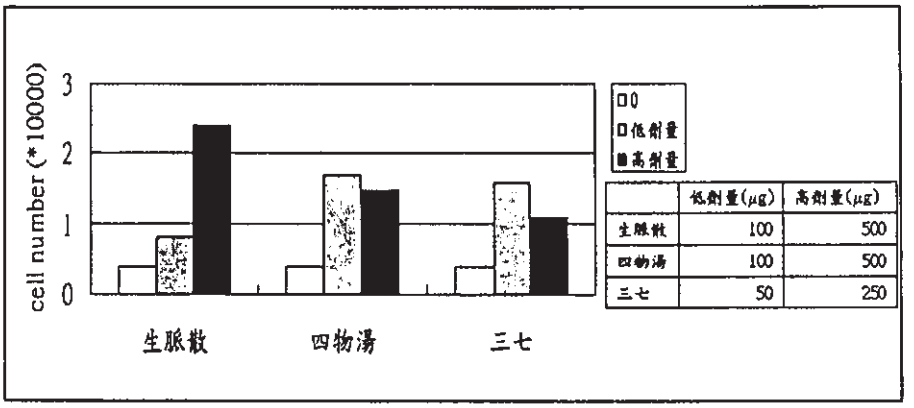
圖六、中藥萃取物對臍帶基質間葉幹細胞生長能力之影響



圖七、中藥萃取物對臍帶基質間葉幹細胞分化成為神經性細胞之影響
—細胞形態分析

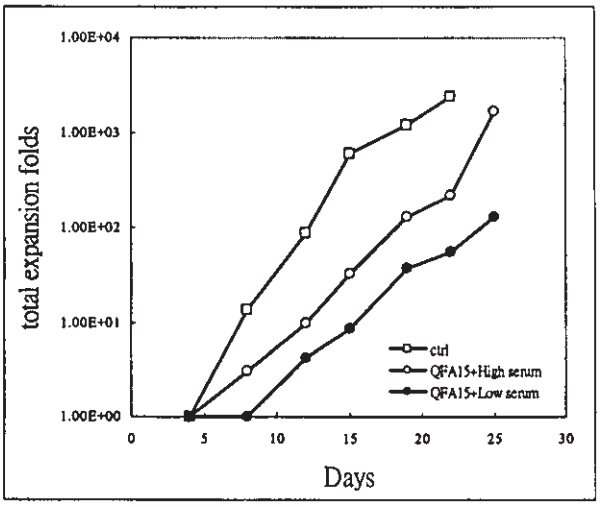


圖八、中藥萃取物對臍帶基質間葉幹細胞分化成為神經性細胞之影響
—RT-PCR 檢測神經分化性基因表達特性

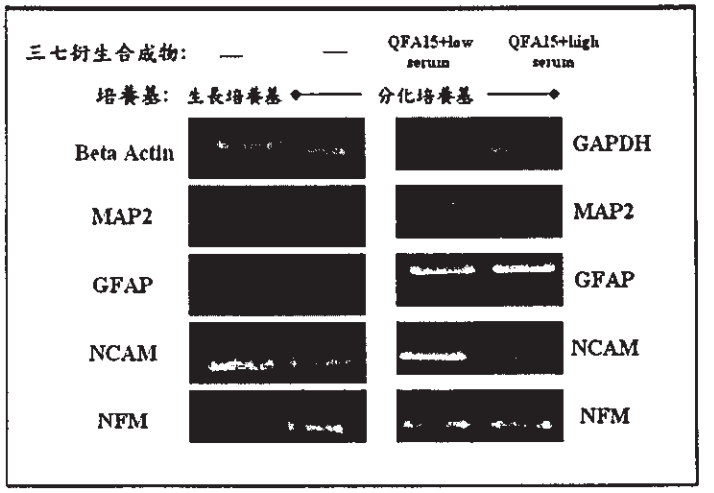


	低劑量(μg)	高劑量(μg)
生脈散	100	500
四物湯	100	500
三七	50	250

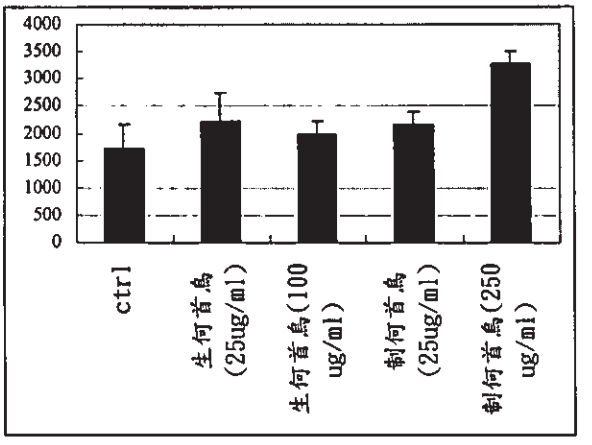
圖九、中藥萃取物對臍帶基質間葉幹細胞分化成為神經性細胞之影響
—神經分化性細胞數量分析



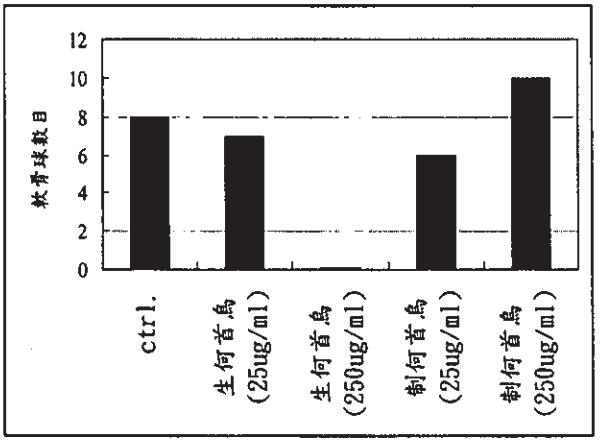
圖十、三七合成衍生物對頭皮基質間葉幹細胞增殖之影響
—血清及細胞激素取代性



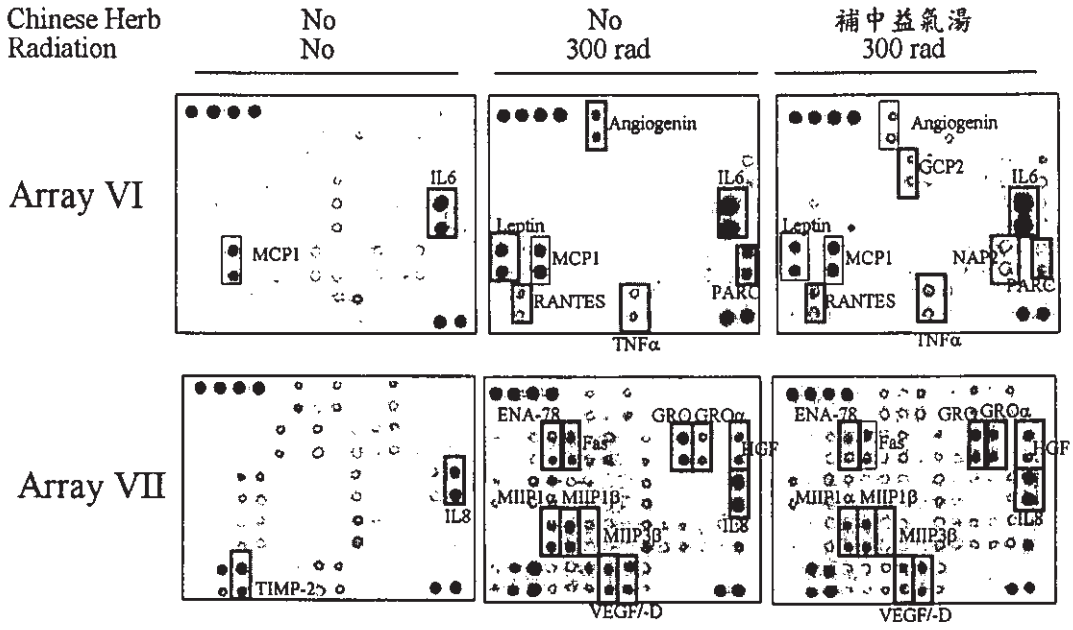
圖十一、三七合成衍生物對頭皮基質間葉幹細胞分化成為神經性細胞之影響
—神經細胞專一性基因之表現



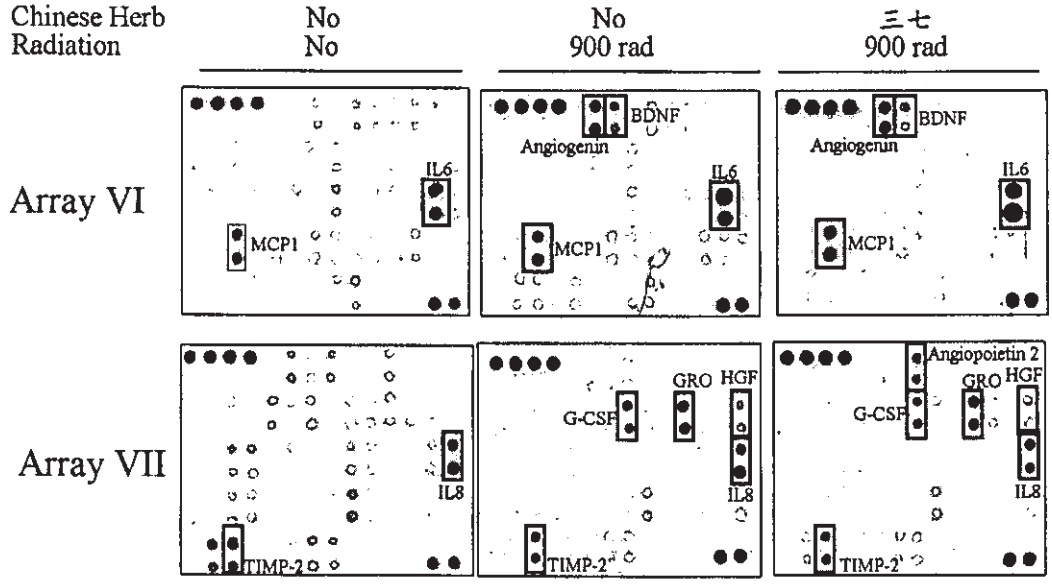
圖十二、何首烏萃取物對脂肪間葉幹細胞分化成為硬骨細胞之影響
—硬骨細胞鈣沉澱定量試驗



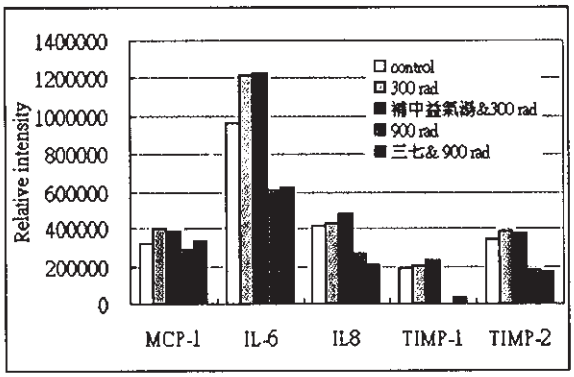
圖十三、何首烏萃取物對脂肪間葉幹細胞分化成為軟骨細胞之影響
—軟骨細胞球形成數量分析



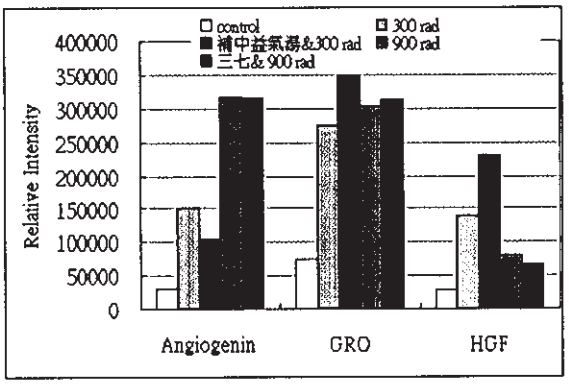
圖十四、補中益氣湯刺激經放射線處理之成體幹原/前驅細胞所表現之細胞激素-細胞激素蛋白微陣列



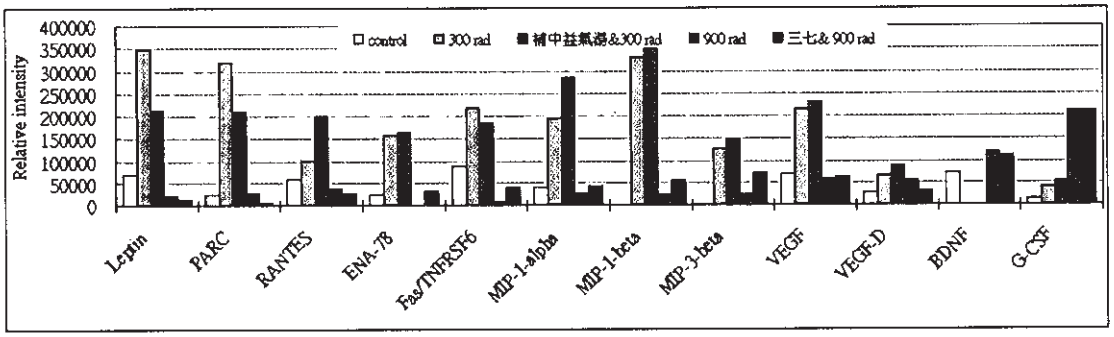
圖十五、三七刺激經刺激放射線處理之成體幹原/前驅細胞所表現之細胞激素-細胞激素蛋白微陣列



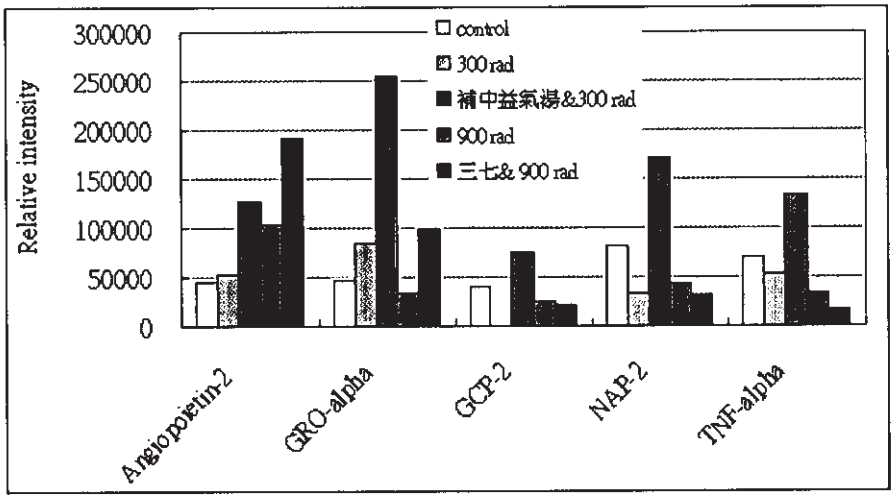
圖十六、脂肪間葉幹細胞分泌之細胞激素
—細胞激素蛋白微陣列_相對強度分析



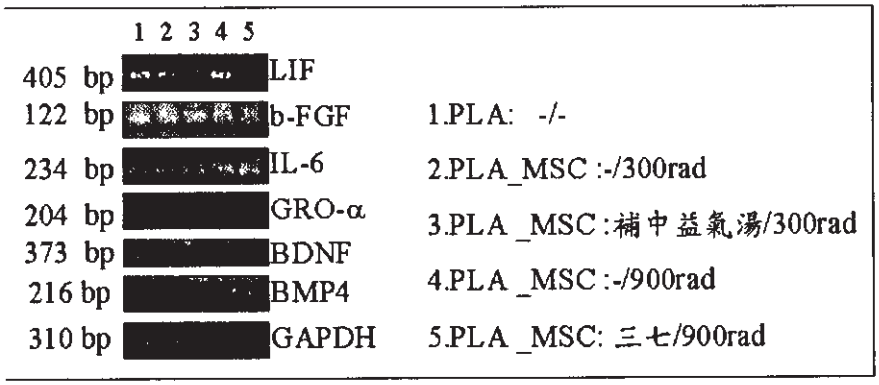
圖十七、脂肪間葉幹細胞受高/低劑量放射線
傷害後所分泌之細胞激素
—細胞激素蛋白微陣列_相對強度分析



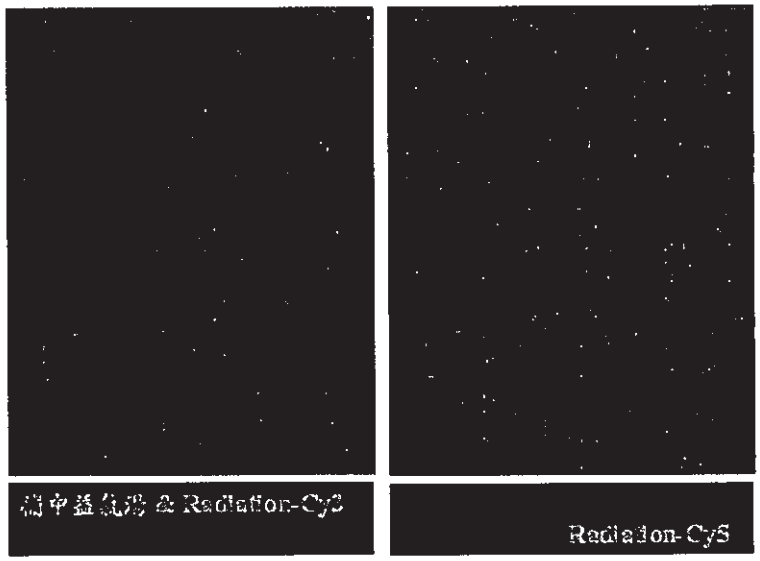
圖十七(續)、脂肪間葉幹細胞受高/低劑量放射線傷害後所分泌之細胞激素
- 細胞激素蛋白微陣列_相對強度分析



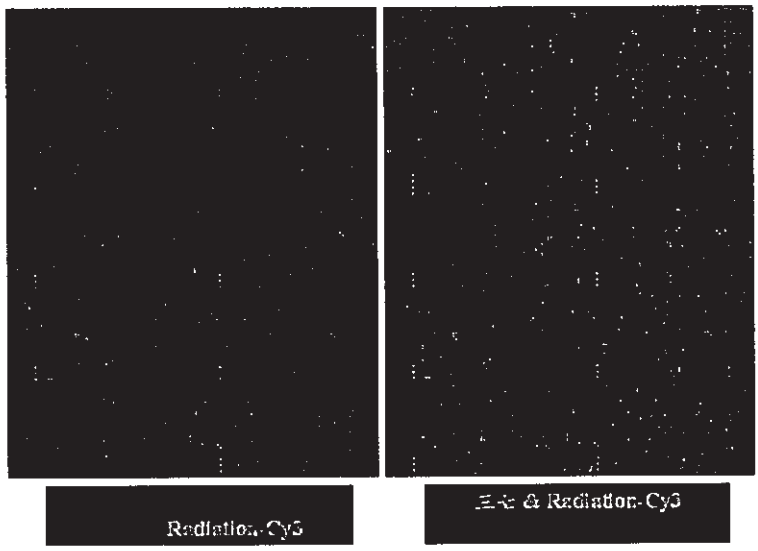
圖十八、中藥加強刺激受放射線傷害的脂肪間葉幹細胞所分泌之細胞激素
-細胞激素蛋白微陣列_相對強度分析



圖十九、脂肪間葉幹細胞受放射線傷害及中藥刺激所分泌之細胞激素 -RT-PCR 分析



圖二十(A)、以 Dye-Swap 基因微陣列晶片篩選補中益氣湯在放射性損傷中，所調節之細胞之基因變化



圖二十(A)、以 Dye-Swap 基因微陣列晶片篩選三七在放射性損傷中，所調節之細胞之基因變化

表一之一:補中益氣湯於γ-ray 照射處理過程中，保護成體幹原前驅細胞的藥理性基因體分析

-實驗組高量表現之基因

實驗組:補中益氣湯(250 μg/ml)先與脂肪間葉幹細胞培養三天後，再以低劑量γ-ray(300 rad)放射線照射處理。

控制組:未加入補中益氣湯，只以低劑量γ-ray(300 rad)放射線照射處理的脂肪間葉幹細胞。

*表列結果為同一基因在兩片 Dye-swap 微陣列晶片的平均值(average)及誤差值(Dev)。

primary name	**Average**	**Dev**
Tumor suppression	**Average**	**Dev**
Human p53 gene for transformation related protein p53	3.22	0.80
LIM domains containing 1	3.78	0.19
Human retinoblastoma susceptibility gene	3.59	0.26
Human, phosphatase and tensin homolog (mutated in multiple advanced cancers 1)	3.89	0.71
Cell cycle	**Average**	**Dev**
Human cell cycle-regulated factor p78 mRNA	2.50	0.54
Cytokine & ligand	**Average**	**Dev**
Human interferon-beta-3 gene.	7.25	1.75
interleukin 8	3.12	0.94
parathyroid hormone-like hormone	3.17	0.25
interleukin 24	2.57	0.40
Human mRNA for kidney epidermal growth factor (EGF) precursor.	2.46	0.08
Human neutrophil-activating peptide (NAP-2)	2.04	0.06
Receptor	**Average**	**Dev**
Human ALK-1 mRNA(acticin receptor-like kinase)	12.47	5.07
Human T-cell gamma receptor locus	11.93	5.02
growth hormone releasing hormone receptor	4.04	2.15
Human mRNA for M130 antigen(Hemoblobin scavenger receptor).	5.96	1.04
Human HSIL5R2 gene for interleukin-5 receptor type 2.	5.64	0.35
man mRNA for adrenergic receptor alpha 1C isoform 3	2.62	0.03
Human chemokine receptor (CXCR-4) gene	2.85	0.82
Human CB1 cannabinoid receptor (CNR1) gene	2.75	0.79
putative chemokine receptor; GTP-binding protein	2.33	0.37
chemokine (C-X3-C) receptor 1	2.26	0.40
killer cell lectin-like receptor subfamily B	2.54	0.68
tumor necrosis factor receptor superfamily, member 17	2.22	0.37
Human partial 5-HT4 receptor gene	3.92	2.07
Signal Transduction	**Average**	**Dev**

Human mRNA for NOTCH4	5.69	0.59
dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase	3.58	0.16
Human G-protein alpha subunit 14 (Galpha14) mRNA	3.26	0.12
Human AF-6 mRNA	4.53	1.35
Human calcineurin A1 mRNA	4.28	1.13
regulator of G-protein signalling 2	2.53	0.44
Human Eph-like receptor tyrosine kinase hEphB1b (EphB1)	2.47	0.10
Human IkB kinase-a (IKK-alpha) mRNA	2.72	0.52
ECM & cytoskelenton	**Average**	**Dev**
Human alpha-5 collagen type IV (COL4A5) mRNA	5.21	2.33
Human integrin alpha 11 subunit precursor (ITGA11) mRNA	6.91	0.08
Human HE4 mRNA for extracellular protease inhibitor homologue.	3.70	1.42
protocadherin 1 (cadherin-like 1)	5.26	2.09
Human mRNA for brain cholecystokinin receptor.	5.33	2.19
lectin, mannose-binding	2.89	0.22
Human CDH7 mRNA for cadherin-7	2.21	0.32
Human filamin (FLNB) gene	3.89	1.60
Human protocadherin-beta15 (PCDHB15) mRNA	2.34	0.24
neural cell adhesion molecule 1	2.38	0.79
Transcription	Average	Dev
Human transcription factor IIIA (HTFIIIA) mRNA	8.60	1.60
Human zinc finger protein ZNF137 mRNA	6.23	0.02
Human, transcription factor AP-4 (activating enhancer-binding protein)	3.78	1.19
Human mRNA for transcriptional intermediary factor 2.	4.22	1.82
Human (oct-6) mRNA	3.07	0.98
zinc finger protein 230	2.74	1.21
Human zinc finger protein (ZNF143) mRNA	4.13	0.95
Human homeobox-containing transcripton factor HOXD1 (HOXD1)	13.67	11.33
homeo box HB9	2.23	0.01
nuclear receptor subfamily 1, group D, member 1	1.96	0.15
zinc finger protein 8	3.10	1.32
U3 snoRNP-associated 55-kDa protein	2.18	0.41
Human TBP-associated factor (hTAFII130) mRNA	2.59	0.97

表一之二:補中益氣湯於γ-ray 照射處理過程中，保護成體幹原前驅細胞的藥理性基因體分析

-控制組高量表現之基因

實驗組:補中益氣湯(250 μg/ml)先與脂肪間葉幹細胞培養三天後，再以低劑量γ-ray(300 rad)放射線照射處理。

控制組:未加入補中益氣湯，只以低劑量γ-ray(300 rad)放射線照射處理的脂肪間葉幹細胞。

*表列結果為同一基因在兩片 Dye-swap 微陣列晶片的平均值(average)及誤差值(Dev)。

primary name	Average	Dev
Oncogene/Tumor Anitgen	**Average**	**Dev**
c-mer proto-oncogene tyrosine kinase	31.36	4.36
v-raf murine sarcoma 3611 viral oncogene homolog 1	7.01	0.40
Similar to src homology 3 domain-containing protein	4.00	1.00
Human adenocarcinoma antigen ART1/P17 mRNA	3.09	1.02
Human hepatocellular carcinoma antigen gene 520 mRNA	12.13	8.70
Human onconeural ventral antigen-1 (Nova-1) mRNA	3.85	0.52
transducer of ERBB2, 2	2.61	0.57
Cell cycle/Apoptosis	**Average**	**Dev**
tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10 (Trail)	8.06	1.12
mesenchyme homeo box 2 (growth arrest-specific homeo box)	3.69	1.34
p21/Cdc42/Rac1-activated kinase 1 (yeast Ste20-related)	3.30	0.06
caspase 10, apoptosis-related cysteine protease	2.38	0.33
cyclin-dependent kinase 8	2.48	0.23
death effector domain-containing	2.35	0.19
death effector domain-containing	2.84	0.61
tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 7 (CD27)	2.30	0.37
Cytokine & ligand	**Average**	**Dev**
amphiregulin (schwannoma-derived growth factor)	11.40	8.33
interleukin 11	10.67	2.53
Human IL-17 mRNA, complete cds.	6.33	0.86
Human complement protein C8 alpha subunit mRNA	3.87	0.37
Human Lice2 beta cysteine protease mRNA	2.75	0.63
Human interleukin 1-beta (IL1B) gene	2.06	0.14
Human mRNA for interferon regulatory factor-2 (IRF-2).	3.63	1.53
leptin (murine obesity homolog)	2.22	0.19
angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 1	2.23	0.27
Human CC chemokine gene cluster, complete sequence.	2.03	0.21
Human, oncostatin M	2.05	0.05
Receptor	**Average**	**Dev**
MAM domain protein	15.86	7.40

estrogen-related receptor gamma	21.85	10.48
leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B	9.10	0.70
opiate receptor-like 1	6.83	0.54
Human alpha-2A adrenergic receptor mRNA, complete cds.	4.94	2.08
arginine vasopressin receptor 1A	4.00	1.88
Human interferon-gamma receptor alpha chain gene, exon 5.	5.81	0.01
estrogen receptor 1	4.66	0.80
plexin B1 (hepatocyte growth factor (HGF) receptor family)	4.11	1.18
Human olfactory receptor (OR7-86) pseudogene	4.28	0.86
Human vasoactive intestial peptide receptor mRNA	3.55	1.05
Human tyrosine kinase-type receptor (HER2) mRNA	3.65	0.92
Human gene for very low density lipoprotein receptor	3.70	0.63
histamine receptor H1	4.74	1.11
Signal Transduction	**Average**	**Dev**
protein tyrosine phosphatase	7.61	3.32
Human A-kinase anchoring protein (AKAP18) mRNA	4.69	2.54
Human, SH3-domain GRB2-like 1	4.57	1.71
Human mRNA for protein kinase C (PKC) type beta I.	6.79	1.09
zeta-chain (TCR) associated protein kinase (70 kD)	4.58	0.98
Human fetal brain glycogen phosphorylase B mRNA	4.56	0.39
soc-2 homolog(RAS-BINDING PROTEIN SUR8)	3.42	1.33
Human protein kinase HIPK2 mRNA	8.60	4.22
Human mRNA for paraplegin-like protein (ATPase FAMILY GENE 3-LIKE 2).	3.20	1.03
protein kinase, AMP-activated, alpha 1 catalytic subunit	3.04	0.44
tec protein tyrosine kinase	3.10	0.28
protein phosphatase 5, catalytic subunit	3.58	0.49
Human TRAF family member-associated NF-kB activator TANK mRNA,	3.02	0.10
protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 14	5.26	2.44
Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) beta, clone MGC:153	3.72	0.97
SH3 domain binding glutamic acid-rich protein	5.10	2.42
c-src tyrosine kinase	5.69	3.16
Human mRNA (clone C-2k) mRNA for serine/threonine protein kinas	3.37	0.86
mitogen-activated protein kinase 11	2.51	0.00
Human mRNA for transducin (beta) like 1 protein.	2.28	0.00
Human Ser/Thr protein kinase PAR-1A mRNA	2.37	0.22
Human mRNA for protein tyrosine phosphatase precursor	2.80	0.80
ECM & cytoskelenton	**Average**	**Dev**

Human gene for cytokeratin 20.	8.15	3.85
glycoprotein A33 (transmembrane)	8.20	2.35
Human E48 gene.	9.46	0.45
myosin-binding protein H	9.80	0.00
dynein, axonemal, light polypeptide 4	4.47	1.21
carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 3	3.88	1.55
Human collagen type V alpha 3 chain (COL5A3) mRNA	3.50	1.23
Human, kinesin 2 (60-70kD)	3.70	0.18
Human, keratin 8	2.83	0.17
Human extracellular matrix protein 1 (ECM1) gene	3.96	0.82
procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 3	2.92	0.23
Human hHa6 gene for keratin type I.	2.85	0.24
gap junction protein, beta 1, 32kD (connexin 32)	2.49	0.09
follistatin-like 3 (secreted glycoprotein)	2.94	0.56
beaded filament structural protein 1, filensin	2.32	0.05
receptor (calcitonin) activity modifying protein 2	2.15	0.21
Human, elastase 1, pancreatic	2.24	0.06
actin filament associated protein	2.39	0.21
integrin, beta 3 (platelet glycoprotein IIIa, antigen CD61)	5.28	3.12
spectrin SH3 domain binding protein 1	2.10	0.01
Human integrin alpha 10 subunit (ITGA10) mRNA	2.45	0.45
tight junction protein 1 (zona occludens 1)	2.73	0.77
Human PC-LKC mRNA for protocadherin LKC	2.27	0.31
Transcription	**Average**	**Dev**
Human transcription factor IIIC102 mRNA	57.39	11.94
transcription factor 7 (T-cell specific, HMG-box)	8.87	5.01
Human (HeLa) small nuclear U5 A RNA.	5.68	3.65
Human 5' region ZFY gene sequence.	5.43	3.39
Human ZFX mRNA for put. transcription activator, isoform 2.	7.52	0.06
promyelocytic leukemia	5.28	2.22
Human zinc transporter 4 (ZNT4) mRNA	4.76	2.49
H2B histone family, member B	7.01	0.51
cartilage paired-class homeoprotein 1	5.01	0.70
Human adaptor protein APPL mRNA	3.81	1.54
Human CCAAT/enhancer binding protein alpha gene	5.19	0.19
signal transducer and activator of transcription 2, 113kD	3.29	1.09
polymerase (DNA directed), alpha	3.15	0.99
Human putative RNA binding protein (RBP56) mRNA	4.77	1.48

Human TFIID subunits TAF20 and TAF15 mRNA	3.00	0.08
nucleoporin 62kD	2.24	0.67
polymerase (DNA directed), delta 3	4.13	1.25
Human mRNA for TIP49 (TATA box-binding protein-interacting protein)	3.28	0.12
Human clone Sp1 zinc finger protein gene	3.92	1.42
Human scr3 mRNA for RNA binding protein SCR3	3.23	0.77
zinc finger protein 211	7.40	5.26
Human YL-1 mRNA for YL-1 protein (nuclear protein with DNA-bind)	2.60	0.63
Human mRNA for nuclear pore complex protein (NUP107 gene).	2.86	0.93
Human SREBP-1 mRNA	2.43	0.51
transcription elongation factor B (SIII), polypeptide 3 (110kD)	2.92	1.03
Human promyelocytic leukemia zinc finger protein (PLZF) gene	2.82	0.95

表二之一:三七於γ-ray 照射處理過程中，保護成體幹原前驅細胞的藥理性基因體分析

-實驗組高量表現之基因

實驗組: 三七(50 μg/ml)先與脂肪間葉幹細胞培養三天後，再以高劑量γ-ray(900 rad)放射線照射處理。

控制組:未加入三七，只以高劑量γ-ray(900 rad)放射線照射處理的脂肪間葉幹細胞。

*表列結果為同一基因在兩片 Dye-swap 微陣列晶片的平均值(average)及誤差值(avedev)。

Primary name	Average	AVEDEV
ECM & cytoskeleton	Average	AVEDEV
Human cadherin-10 (CDH10) mRNA, complete cds.	7.394154	0.2981538
Human, tubulin alpha 1, clone MGC:15803 IMAGE:3505537, mRNA, co	5.829638	2.3813621
Human laminin B2 chain gene, exon 27.	5.744288	2.7302881
spectrin, beta, non-erythrocytic 2	4.930217	1.714783
Human mRNA for KINESIN-13A1 (KIN13A gene).	4.878141	1.0758593
coronin, actin-binding protein, 1C	3.560901	1.3630989
Human, elastase 1, pancreatic, clone MGC:12394 IMAGE:3950124, m	4.26609	1.9450901
Human elastin gene, exons 5-27 and alternatively spliced produc	3.219197	1.1488033
coronin, actin-binding protein, 2B	2.752586	0.064414
Human muscle beta-spectrin (HSPTB1) gene, Humspec.2m exon seque	2.720148	0.073148
Human beta 1 integrin isoform C (ITGB1) gene, exon C.	2.365697	0.2953033
Differentiation	Average	AVEDEV
Human BNPI mRNA for brain-specific Na-dependent inorganic phosp	12.20569	4.9593116
Human prostate-specific G-protein coupled receptor mRNA, comple	12.18319	8.0338112
Human uterus-ovary specific putative transmembrane protein UO m	8.032172	4.3008284
T-box 5	7.564288	0.9102881
hPROT=brain-specific L-proline transporter [Human, hippocampus,	7.385189	4.0068108
Human LIN-7 homolog 1 (MALS-1) mRNA/may be a regulatory point for synaptic plasticity and neuronal morphogenesis	5.52925	2.28325
neurofilament, heavy polypeptide (200kD)	2.374325	0.1956754
Human epidermal cytokeratin 2 mRNA, complete cds.	2.445197	0.3748033
receptor	Average	AVEDEV
nuclear receptor subfamily 2, group C, member 1	8.122074	2.8029255
Human interleukin-8 receptor (IL8RB) gene, complete cds.	6.445656	2.728656
Human insulin-like growth factor I receptor gene, promoter regi	4.940294	2.6932939
Human LDL receptor-related protein 6 (LRP6) mRNA, complete cds.	4.934801	0.300801
Human CSF-1 receptor (FMS) gene, complete cds, and (SMF) gene,	4.43178	1.6657805
Human mRNA for neurotensin receptor.	2.705197	0.6348033

cytokine ligand	Average	AVEDEV
Human mRNA for leukaemia inhibitory factor (LIF/HILDA).	6.016279	2.8332788
Human chemokine (hmrp-2a) mRNA, complete cds.	4.479668	2.2223318
transforming growth factor, beta 2	4.468909	1.2129091
small inducible cytokine subfamily B (Cys-X-Cys), member 6 (GCP2)	3.03233	0.9046702
interferon, alpha 2	2.356901	0.2609005
Cell cycle & proliferation	Average	AVEDEV
Human, replication factor C (activator 1) 5 (36.5kD), clone MGC	12.03267	8.8006667
Human decorin gene, exons 2 and 3.	5.901172	1.5908276
S-phase kinase-associated protein 2 (p45)	3.625643	0.7796432
Human proliferating cell nuclear antigen (PCNA) gene, complete	3.958503	1.3325026
M-phase phosphoprotein 1	3.361501	0.5124986
oncogene	Average	AVEDEV
Human, Similar to v-src avian sarcoma (Schmidt-Ruppin A-2) vira	10.41574	7.3482577
v-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral oncogene homolog 1	8.32334	4.0223395
Human retinoblastoma susceptibility gene exons 1-27, complete c	5.749974	0.7859739
Human hepatocellular carcinoma antigen gene 520 mRNA, complete	5.638188	1.6081884
Human oncoprotein 18 (Op18) gene, complete cds.	5.186241	1.8417592
tumor protein 63 kDa with strong homology to p53	4.274048	1.7500482
Human tyrosine kinase-type receptor (HER2) mRNA, complete cds.	4.14602	0.9560204
Human high-risk Human papilloma viruses E6 oncoproteins targete	3.709689	0.4396888
carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 8	2.086297	0.2747029
Human colorectal mutant cancer protein mRNA, complete cds.	2.813087	0.0770867
Apoptosis	Average	AVEDEV
Human toll-like receptor 10 mRNA, complete cds.	8.901024	4.0229756
tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 14/LIGHT	3.15166	1.1036596
Human Toll-like receptor 3 (TLR3) mRNA, complete cds.	2.846126	0.0988736
Human glucocorticoid-induced TNFR-related protein (TNFRSF18) mR	2.087322	0.031322
toll-like receptor 3	2.552317	0.1656826
Human toll-like receptor 4 (TLR4) gene, TLR4A allele, complete	2.175891	0.2491089
Metabolism	Average	AVEDEV
Human fur gene, exons 1 through 8.	8.368093	6.0479072
tryptase beta 1	9.440143	4.9758571
Human cDNA FLJ20460 fis, clone KAT06059, highly similar to GLSL	7.911189	3.7618112
Human cDNA FLJ14075 fis, clone HEMBB1001905, weakly similar to	7.454689	3.3053112
Human cDNA FLJ14456 fis, clone HEMBB1001915, moderately similar	5.99958	0.0824201

Human, creatine kinase, mitochondrial 1 (ubiquitous), clone MGC	5.970231	2.2942314
ion channel	Average	AVEDEV
Human alpha 2 delta calcium channel subunit isoform I mRNA, com	9.929505	1.0595055
solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 2	5.622704	1.7847037
sodium channel, nonvoltage-gated 1 alpha	4.976696	2.2593043
Human organic cation transporter OCTN2 (OCTN2) mRNA, complete c	4.911406	0.5445939
potassium voltage-gated channel, delayed-rectifier, subfamily S	4.741389	0.3166106
sodium channel, voltage-gated, type I, beta polypeptide	4.584504	0.6474961
Human clone 3 inwardly-rectifying potassium channel Kir5.1 (KCN	4.525143	0.0608571
Human sodium channel 1 (hBNaC1) mRNA, complete cds.	2.515002	0.4880015
Other	Average	AVEDEV
Human genomic DNA of 21q22.2 Down Syndrome region, segment 11/1	7.556062	2.5809378
DXImx48e protein	5.920346	1.1126538
transmembrane 4 superfamily member 4	5.836004	2.7110043
ESTs	5.632213	2.1957869
Human mRNA for KIAA0085 gene, partial cds.	5.545474	1.0334737
signal transduction	Average	AVEDEV
Human guanine nucleotide-binding regulatory protein (Go-alpha)	7.27034	5.0753395
Human ATP-binding cassette protein ABCB9 (ABCB9) mRNA, complete	6.846369	2.8623689
KIAA0485 protein	5.975599	1.1165993
Human protein phosphatase 2A beta subunit mRNA, complete cds.	5.03916	2.4618402
Human mad protein homolog Smad2 gene, exon 9 and 10.	4.16966	0.0856596
Transcription	Average	AVEDEV
Human transcription factor HOXA13 (HOXA13) gene, complete cds.	5.208168	2.9508318
Human homeobox protein Cdx1 mRNA, complete cds.	5.238676	0.6436765
zinc finger protein 16 (KOX 9)	4.510827	1.366173
Human transcription factor (CBFB) mRNA, 3' end.	3.238455	0.3975455
Human, Similar to paired-like homeodomain transcription factor	2.373598	0.2414019

表二之二:三七於γ-ray 照射處理過程中，保護成體幹原前驅細胞的藥理性基因體分析

-控制組高量表現之基因

實驗組: 三七(50 μg/ml)先與脂肪間葉幹細胞培養三天後，再以高劑量γ-ray(900 rad)放射線照射處理。

控制組:未加入三七，只以高劑量γ-ray(900 rad)放射線照射處理的脂肪間葉幹細胞。

*表列結果為同一基因在兩片 Dye-swap 微陣列晶片的平均值(average)及誤差值(Avedev)。

ECM & cytoskeleton	Average	AVEDEV
cadherin 4, type 1, R-cadherin (retinal)	3.042625	0.863625
Human laminin gamma 3 chain precursor (LAMC3) mRNA, complete cd	3.318140684	0.484140684
Human mRNA for membrane-type matrix metalloprotease 1.	2.752915254	0.636915254
Human connexin 26 (GJB2) mRNA, complete cds.	3.673086207	1.517913793
Human nonclathrin coat protein gamma2-COP mRNA, complete cds.	5.416868932	4.291868932
Differentiation	Average	AVEDEV
Human neurofilament protein mRNA, complete cds.	5.794603806	2.334396194
Human neurocan (CSPG3) mRNA, complete cds.	5.302888889	2.525111111
Human gene encoding synaptogyrin 2, exons 2 & 3.	5.078562189	0.103437811
receptor	Average	AVEDEV
Human, glutamate receptor, ionotropic, AMPA2 (alpha 2), clone M	5.446817518	1.797182482
Human inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 gene, promot	3.763984496	0.111984496
Human intrinsic factor-vitamin B12 receptor (CUBN) gene, exons	3.241722222	1.202722222
platelet activating receptor homolog	3.20477566	0.27222434
Human retinoid X receptor alpha mRNA, 3' UTR, partial sequence.	3.185188797	0.964188797
peroxisome proliferative activated receptor, delta	2.072568233	0.164568233
cytokine ligand	Average	AVEDEV
interferon, beta 1, fibroblast	6.85349505	3.04749505
interleukin-2 [Human, placenta, term placentas obtained by cesa	6.73949505	3.16149505
Human receptor tyrosine kinase ligand LERK-3 (EPLG3) mRNA, comp	5.73275	2.07975
Human interferon-beta-3 gene.	4.753360544	2.049360544
Human LPS-Induced TNF-Alpha Factor (LITAF) mRNA, complete cds.	3.929476744	1.884476744
thyrotropin-releasing hormone	3.580913043	0.766913043
Human platelet-derived growth factor A-chain gene, promoter reg	2.553898396	0.119898396
Human neurotrophin-4 (NT-4) gene, complete cds.	2.099762646	0.154237354
Human mRNA for interferon IFN-gamma.	2.447956522	0.274043478
Cell cycle & proliferation	Average	AVEDEV
oncogene	Average	AVEDEV
Human mRNA for spi-1 proto-oncogene.	7.824155963	1.350155963
RAB11B, member RAS oncogene family	4.081199248	0.321800752

Human prot-oncogene (BMI-1) mRNA, complete cds.	3.251568233	1.014431767
v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2	2.389952164	0.112047836
Human brain tumor associated protein NAG14 (NAG14) mRNA, comple	2.067666667	0.015666667
ion channel	Average	AVEDEV
Human channel associated protein of synapse (chapsyn-110) mRNA,	2.488488372	0.418488372
Other	Average	AVEDEV
mitochondrial intermediate peptidase	5.424639175	4.884639175
eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 1 (alpha, 3	3.243137931	0.205137931
apolipoprotein B (including Ag(x) antigen)	7.051484663	0.916515337
protease, serine, 7 (enterokinase)	3.217653753	0.796346247
signal transduction	Average	AVEDEV
acid phosphatase 5, tartrate resistant	4.363796791	0.983796791
Human mRNA for guanine nucleotide exchange factor (gef gene).	4.100296791	1.247296791
Transcription	Average	AVEDEV
Human transcription elongation factor (SII) mRNA, complete cds.	7.847713376	1.478286624
TBP-interacting protein	4.197172043	1.179172043
Human, developmentally regulated GTP-binding protein 2, clone M	3.370490196	0.919509804
Human HPTP beta mRNA for protein tyrosine phosphatase beta.	3.514930595	0.682069405
Human, GATA-binding protein 3, clone MGC:5199 IMAGE:2985843, mR	3.101564103	0.103564103
nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-ce	3.162594203	0.460594203
cellular retinoic acid-binding protein 1	2.916885965	0.591885965
Human homeobox B7 (HOXB7) gene, partial cds; and homeobox B6 (H	2.853671642	0.877671642
Human nuclear factor I-B2 (NFIB2) mRNA, complete cds.	2.631009225	0.785990775
Human Kox14 mRNA for zinc finger protein, partial.	2.50827566	0.42427566

Herb	-	-	補中益氣湯
Radiation	-	300 rad	300 rad
Cytokines	•MCP-1, IL8, IL6, TIMP2	•MCP-1, IL8, IL6, TIMP2 •Angiogenin, GRO, HGF •Leptin, PARC,RANTES, TNFα, ENA-78, Fas, GROα, MIP-1α, -1β, -3β, VEGF, VEGF-D	•MCP-1, IL8, IL6, TIMP2 •Angiogenin, GRO, HGF •Leptin, PARC,RANTES, TNFα, ENA-78, Fas, GROα, MIP-1α, -1β, -3β, VEGF, VEGF-D NAP2, GCP2
Herb	-	-	三七水萃液
Radiation	-	900 rad	900 rad
Cytokines	•MCP-1, IL8, IL6, TIMP2	•MCP-1, IL8, IL6, TIMP2 •Angiogenin, GRO, HGF •BDNF, G-CSF	•MCP-1, IL8, IL6, TIMP2 •Angiogenin, GRO, HGF •BDNF , G-CSF •Angiopoietin-2

表三: 總論補益中藥誘導成體間葉幹細胞所產生的細胞蛋白激素