

編號：CCMP92-RD-021

應用幹原細胞探討中藥對人體組織修復 再生功能之基因體研究 (3-1)

施子弼

台北醫學大學細胞及分子生物研究所

摘 要

在臨床上傳統中藥對人體疾病醫療被認定有相當程度療效，但其作用成分及藥理大部分不明瞭。幹原細胞近年來的研究已顯示體幹／母細胞具多樣性組織修復再生功能。本計畫之主旨在於應用人體組織幹／母細胞鑑定天然中藥效用成分，並應用分子生物實驗來評估中藥對人體組織幹／母細胞之基因體表達影響，從而了解中藥之分子藥理。具體上本計劃將針對造血相關組織具修復效能之中藥探討其對於人體造血、間質及神經幹／母細胞分化培養中之影響，來觀察鑑定其藥效及毒性，並由其培養分化中之細胞族群來探討其基因表達影響之分子藥理。

本實驗室於 92 年度十個月執行期間，利用新生兒臍帶血中分離之造血幹／母細胞或人體組織間質幹細胞，評估 6 種中藥萃取物對於幹細胞之增殖與分化作為檢測，並觀察其可能參與影響血球系及間質幹細胞之細胞活性之分子機制。完成三項目標包含（一）我們已建立一體外培養造血與間質幹細胞生長與分化及毒性測試平台。（二）已完成檢測西洋參、柴胡、三七、薏仁殼、黃耆、紅景天對幹細胞體外群落生長及懸浮培養之效用。（三）檢測藥物對於幹細胞生長分化之分子基因體表達差異分析技術之建立。初步檢定有影響幹細胞活性之中藥材，發現中藥紅景天萃取物的確具有影響造血紅血球等早期細胞生長或調節分化潛能之功能，而三七衍生物組織間質幹細胞有協助神經分化的功能。在此計畫執行期間，除繼續篩選有效之中藥材外，將針對目前已知有效用之中藥材對於幹細胞基因體表達之影響及探討。我們並探討中藥對存於各組織間質幹細胞如頭皮之表皮、骨髓間質、脂肪間質之分化研究。為了進一步探討中藥對

組織幹／母細胞基因體作用之藥理，將來於動物實驗中求證。本研究之完成預期將提供增加中藥天然物對於組織幹母細胞功能影響的真正了解以供中藥之臨床藥物開發。

關鍵詞：人體組織幹／母細胞、中藥天然藥物、組織再生修復、造血及神經組織、藥物基因體

Number : CCMP92-RD-021

A Pharmacogenomics Evaluation of Chinese Herbs' Function Using Human Tissue Stem/Progenitor Cells

Daniel Tzu-bi Shih

Institute of Molecular Cell Biology Taipei Medical University

ABSTRACT

Chinese herbs for human disease, tissue repair and regeneration have been used frequently, yet most of their effective components and action mechanisms remain under exploring. Recent progresses on stem cell research have shown the tissue stem/ progenitor cells compose multipotency on tissue regeneration and repair. The objective of this study is to identify effective components of selected Chinese herbs by in vitro culture of human tissue / progenitors and to evaluate their mediated genomic influences by molecular biology studies. This study will focus on examining the pharmacogenomic influences of some Bu-Yi Chinese medicine on hematopoietic and mesenchymal stem/progenitors. The functional genomic alterations caused by drug treatment in established primary culture systems will be analyzed at cell and molecular levels.

In the past 10 months, we have previously evaluated the effect of several Chinese herb extracts on lineage specific cell growth and colony formation increase of cord blood hematopoietic stem/ progenitor cells by in vitro culture. We have three accomplishments including 1) We have established a platform for effective Chinese herb screen and drug toxicity test by colony forming assay. 2) We have examined the function of *Astragalus membranaceus* Bge., *Panax quinqueflum* L., *Panax notoginseng* F.H.Chen, *Bupleurum chinense* DC., *Coix lachryma-jobi* L. and

Rhodiola kirilowii by colony forming assay and liquid culture. 3) We have a cDNA microarray analysis technique for this study. With this technique, we will explore the transcription profile of stem / progenitor cells under drug effect. According to the result, water extract of Rhodiola kirilowii contains effective components able to increase erythroid colony forming cells of cord blood CD34+ HS/PCs while ethanol extract showed toxicity to hematopoietic stem/ progenitor cells. The herb Panax notoginseng F.H. Chen derivatives for promote MS/PCs morphological neuron trans-differentiation. We focused on effective component determination of Rhodiola kirilowii and Panax notoginseng F.H.Chen on cell growth or differentiation of cord blood stem / progenitor cells and tissue mesenchymal stem cells. A further verification of the drug effect will be conducted by the in vivo mice study. Accomplishment of this project will improve our understanding of molecular mechanism of herb medication and their influences on stem cell biology which will benefit futureclinical application.

Keywords: hematopoietic stem / progenitor cells, mesenchymal stem / progenitor, cells tissue regeneration and repair, Rhodiola kirilowii, Panax notoginseng F.H.Chen, trans-differentiation.

壹、前言

目前中藥不但對於心臟血管、神經系統、腸胃道功能、生殖泌尿系統、造血系統甚至於癌症治療效果已有基礎臨床研究，對器官、組織之慢性病變、衰老之療效，亦已有無數之驗證，但其分子藥理作用機制並不清楚。人體有大多的組織是靠其前驅／幹細胞（Progenitor / Stem Cell）不斷增生分化出新的細胞來代替衰敗老死的細胞，研究顯示具多功能性之幹細胞在成年時期也一直存在，並參與身體組織之正常修補與替換，如在骨髓、皮膚、中樞神經系統、乳腺及肌肉都已找到含有再生能力之組織幹原細胞。以血球細胞中的紅血球系為例，在正常狀態下紅血球的壽命約 120 天，每天新陳代謝破壞約 0.83%，主要靠骨髓中的（造血幹原細胞）增生分化來維持體內紅血球數值不變。其他還有如皮膚、頭髮、腸絨膜的上皮細胞等也是要靠其組織幹／前驅細胞（Stem / Progenitor Cell）來補充代替老化的細胞。由於人類基因體之解碼科技已建立，且已知人體幹原細胞具有多潛能性，是個體組織器官發育之起源，因此透過幹原／前驅細胞的藥物基因體研究，可增加我們對中藥作用機理了解，並擴大醫療上應用範圍。有效利用中藥來活化個體組織器官幹原細胞的活性與加速創傷組織的修復是本計劃的最終目標。

本實驗室目前利用骨髓、新生兒臍帶血及成人血，建立造血幹原細胞經體外培養分化紅血球模式，將早期幹原細胞分化為成熟去核紅血球。也初步利用群落生成方法測試數種中藥之甲醇萃取物對於造血幹原細胞之分化潛能與細胞增生能力之影響，但礙於人力及經費之限制，未能繼續研究其參與之基因體機制。本計劃主張採取、分離人類幹原前驅細胞進行初級培養，避免因採用癌化細胞株（cell line）造成機轉背景值差異而誤導研究方向。細胞由於臍帶血之取得較骨髓容易，體外造血、間質葉幹原細胞、臍帶血內皮前驅細胞等細胞培養與免疫分析之成熟技術與單一細胞分離技術之建立，使得本計劃之執行將可達預期成果。

由於基因體之表達主宰細胞生長、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）與周遭環境動態的交互反應所影響。而藥物可能改變了幹原／前驅細胞（Stem / Progenitor Cell）的基因體表達結構，而影響細胞分化或增生能力。本計劃的主旨即是篩選對於不同組織來源之幹原／前驅細胞生長、分化相關之天然藥物，找出藥物對於基因表達與細胞功能之相關性，進而描繪出細胞於細胞生理

狀態改變時基因網絡架構 (genetic network)。為達此目的，我們將建立培養人體組織幹原／前驅細胞系統，並檢測藥物對這些前驅／幹細胞的影響，我們將分三階段，以應用人體幹原細胞直接作為評估藥物對於人體組織生成之功用：

- (一) 尋找具影響幹原細胞 (Hematopoietic Stem Cell) 分化調控能力之藥物，尤其是能取代細胞激素安定之小分子或者是稀有動、植物藥材成分。
- (二) 探討中藥影響幹原／前驅細胞基因體表達之組成因子以及影響細胞行為之機轉。
- (三) 檢測藥物於活體中組織分化與局部損傷修復之功效，並評估有效藥物成分合成之可行性。

貳、材料與方法

一、天然藥物萃取：

目前本研究計畫使用之萃取方法如下：

(一) 水萃取法

取中藥材適量，加入 100°C 的去離子水 (藥材重：水體積為 1:10)。置於 60°C 水浴之下，攪拌萃取 12 小時。取出萃取液，利用 3000rpm，4°C 離心 10 分鐘去除藥材雜質。離心所得之上清液 (萃取液) 利用濾紙做進一步過濾。過濾後之萃取液於 45°C 水浴狀態之下，利用減壓濃縮方式濃縮體積至 5 毫升，進行真空乾燥後回收乾重。取濃縮液 1ml 至 50ml tube 內經冷凍使其凝結後至真空冷凍乾燥機，乾燥後秤重，加入適量 ddH₂O 過 bacterial filter 調整濃度，存放於 4°C 保存。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) 乙醇萃取法：

取藥材若干重量加入不同百分比濃度的乙醇水溶液 (藥材重：溶劑體積為 1:10)。置於室溫之下，攪拌萃取 12 小時。取出萃取液，利用 3000rpm，4°C 離心 10 分鐘去除藥材雜質。離心所得之上清液 (萃取液) 利用濾紙做進一步的過濾。過濾後之萃取液於 45°C 水浴狀態之下，利用減壓濃縮方式濃縮體積至 5 毫升，進行真空乾燥後回收乾重。取濃縮液 1ml 至 50ml tube 內經冷凍使其凝結後至真空冷凍乾燥機，乾燥後秤重，加入適量 ddH₂O 過 bacterial filter 調整濃度，存放於 4°C 保存。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、中藥萃取物之分離與有效成份之鑑定：

本研究計劃執行中所篩選出之有效中藥將進一步利用高解析液相層析法，分離藥物中不同極性之化合物，並與台北醫學大學生藥所教授共同合作，協助鑑定分離有效成份工作，再進一步由檢測細胞活性測試來確認藥效。目前針對紅景天進行酒精與純水萃取之產物分析，並對分離之藥物成分進行造血幹細胞生長之影響測試。

三、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促進。

四、體外集落培養分析（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 3ml 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 10μl 與 trypan blue 染劑 10μl 混合後計數活細胞。取 3×10^4 活細胞加於 300μl PBS，再將 3×10^4 細胞加入 3ml MethoCult™ 中以震盪器混合均勻後以 1ml 針筒裝上 18G 頭分注 0.3ml MethoCult™ 至 24 well 中，分別加入不同濃度 0.1μg/μl，0.5μg/μl，2.5μg/μl，10μg/μl 之中藥 3μl，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% CO₂ 培養 14 天後觀察。

五、體外幹原／前驅細胞之體外培養系統建立：

（一）造血性幹原／前驅細胞分離與培養：

將抽取之臍帶血離心，取 buffy coat 以適量 ficoll paque 分離低密度細胞，並以 0.83%/10μM ammonium chloride 除去紅血球。培養基加上細胞激素 SCF, TPO, IL-3, IL-6, Flt-3L 在體外培養 7 天。本實驗室在幹細胞分佈比例不變下，

已能夠增幅細胞達 120 倍。

(二) 骨髓間質葉幹原／前驅細胞：

我們已購得人類骨髓間質葉幹原前驅細胞，並於特定培養基中長期穩定培養。已知特定細胞表面吸附相關之抗原、受體之表達如 CD29、CD34、CD45、Flt1、KDR、Flt-3、CD105、CD44、CD49e、CD49f、CDw90、SH2、SH4 及 HLA-class I 等將由免疫螢光染色法鑑定，並利用分化誘導劑測試其分化為脂肪細胞、骨質細胞及軟骨細胞等多潛能特性。

(三) 脂肪間質葉幹原／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甘酸酶作用後，收集吸附於培養皿之細胞，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、中藥對於幹細胞之體外生長影響：

(一) 造血幹原／前驅細胞：

我們利用已建立之體外增殖造血前驅細胞方法，收取血球母細胞後，進行專一性不同血球系細胞分化。將欲檢測之中藥成份依不同劑量加入早期與後期增殖分化培養基中，觀察比較各血球系的數量與分化程度差異。我們主要探討中藥對於紅血球系與骨髓白血球系母細胞之再生與分化能力調控。偵測特定細胞在早期與晚期之型態、抗原蛋白及細胞內因子表達差異意義探討。相關免疫抗體偵測、螢光染色、西方墨點法蛋白鑑定及寡核甘酸晶片製備等技術將於分析中應用。

(二) 上皮前驅細胞／間質葉幹細胞之神經前驅細胞分化：

我們將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、基因體分析建立

我們收集不同分化階段之前驅細胞、分化細胞與幹細胞控制組之訊息核甘酸，經放大反應增加分析材料，經螢光標記後與已知之調控細胞生長免疫再生分化之基因組進行雜交結合反應。比較得知差異性基因種類與觀察的細胞型態綜合藥效作用分子途徑。基因體表達檢測對象包含參與細胞生長、細胞增生、細胞分化、細胞凋亡等作用的轉錄因子。細胞因子如 basic-fibroblast growth factor, neuron growth factor, BMP-4 等誘發幹細胞之神經前驅細胞分化，伴隨神經細胞表面標記抗原與專屬細胞蛋白之表達偵測，提供我們判別細胞分化時期與藥物作用效能評估。在經細胞內外蛋白表達檢測應證後，我們預期不同藥劑與單方、複方之作用機理應有所不同，調整藥劑量比例進行交叉比對，找到各種藥劑之最有效功能及釐清其分子機制。我們著重於間質葉幹細胞往神經細胞分化的潛能與其機制探討。

參、結果

本計畫於今年度三月至十二月期間，共計完成的工作項目有三項：

一、應用幹細胞檢測中藥藥性與毒性之系統建立：

(一) 中藥對於血球群落生成之影響檢測：

觀察不同的藥物對造血前驅／幹細胞的影響，由細胞增殖、分化及群落數目作為判斷藥物作用之檢測。

(二) 中藥對造血幹原／前驅細胞之護衛效果檢測

為檢測中藥成分對於創傷、壓力下之早期造血幹原／前驅細胞是否具有保護效果，將等量造血幹細胞加入含有測試中藥成分之培養基，培養 24 小時後，細胞經過 100cGy、300cGy 放射性照射處理，繼續培養 14 天後，檢測血球細胞群落數目。

(三) 中藥對於造血幹原／前驅細胞之損傷修復效果檢測

為進一步檢測中藥成分對於在創傷、壓力下受傷害之早期造血幹原／前驅細胞是否有修復再生功能，將等量造血幹細胞加入無測試中藥成分之培養基，經過 100cGy、300cGy 放射性照射處理後，加入待測試中藥，繼續培養 14 天後，檢測血球細胞群落之存活數增減。

二、中藥對於幹原／前驅細胞活性效應之體外測試結果

(一) 造血幹原／前驅細胞之懸浮生長培養及中藥影響測試：

我們將自人類臍帶血分離之造血（原 CD34+）幹細胞培養於含生長因子之培養基中，造血幹母細胞在無細胞激素刺激下會漸進凋亡若供給少量激素可使細胞進行緩慢生長，協助對於作用溫和之中藥材篩選。利用（1）細胞數量增減（2）特定分化表面抗原表達變化（3）細胞凋亡測試來觀察中藥萃取物對幹原細胞增生分化的影響，所測試的中藥包含黃耆、三七、西洋參、薏仁殼、柴胡。初步結果顯示，此五種中藥對於細胞增殖、分化的效應並無顯著的影響差異（圖一），此外，除柴胡外，黃耆、三七、西洋參、薏仁殼等中藥在培養三天與六天時，均有相對於對照組較多維持群落生長能力之現象（圖二）。這些藥材對於幹母細胞之分化標記表達並無明顯影響顯示他們不具毒性，且不針對特定血球分化系列母細胞有影響（圖三）。另一性屬寒之藥材紅景天，在特定濃度範圍內對於造血前驅細胞生長有明顯促進效果，但高濃度則有誘發細胞凋亡現象產生。同時高濃度紅景天對於髓性 myeloid (KG-1a) 及紅血球母細胞 erythroblast 癌細胞株 (K562) 有生長抑制作用（圖四～圖八）此現象在單獨以熱水萃取之粗成分來培養細胞之實驗中並未觀察到（圖九～圖十一），因此其有效及毒性成分可能存在於醇類萃取之極性成份中，對此成分進一步檢測水溶性產物及酒精溶解性產物之分光性質後（圖十三），將進一步用高壓層析法分離找出作用各主成分，探討其影響細胞生理活性之角色。

(二) 人類組織間質幹原／前驅細胞之培養與中藥參與分化之測試：

我們已初步測試三七萃取物及成分對於間質幹細胞之神經分化影響，發現有些成分可增進神經分化效率，如及衍生物 TFA14，5MIFA16 皆有神經細胞分化傾向類似之效果（圖十四）。

我們測試紅景天對間質幹原細胞 (MSC) 分化能力影響，初步結果顯示對於間質幹原細胞之骨質，脂肪細胞生成分化有促進或抑制的效果，顯示此藥物

可能具有對於組織早期或環境誘發之幹細胞分化潛能調節功能。

(三) 紅景天水萃取物對於造血幹細胞影響測試

我們在以酒精萃取紅景天所得到之成分，在高濃度時對臍帶血造血幹細胞生長活性、分化能力測試之培養結果中，觀察到輕微毒性存在，因此我們利用純水來萃取，針對紅景天之水溶性成分對造血活化功效進行一系列探討，包含：水萃取物對於造血幹細胞生長影響：

紅景天純水萃取物對於臍帶血造血幹原/前驅細胞之生長呈現劑量與群落數目有明顯 Dose dependence 之正向關聯性（圖十五）。

水萃取物對於造血幹細胞保護作用：

造血幹細胞在經過放射線破壞前，先加入紅景天水萃取物，觀察群落生成細胞數量在不同藥物劑量下細胞群落數量變化。初步結果顯示細胞於紅景天存在下，造血幹原細胞（CD34+）經放射線照射破壞下仍維持其幹細胞群落生長特性，隨著濃度增加效果趨顯著，顯示藥物中含有保護幹原細胞存活及維持正常活性的成分（圖十六）。

水萃取物對於造血幹細胞修復作用：

造血細胞在經放射線照射後，再加入紅景天水萃取物，結果顯示群落生成細胞數目較對照組多，顯示紅景天水萃取物對能形成紅血球細胞群落之幹母細胞受到的傷害有明顯修復效用，但對能生成顆粒性及巨噬細胞群落之幹母細胞反有消滅之作用（圖十七）。

由以上結果得到初步結論，紅景天對於造血幹細胞之生長與保護作用來自於水溶性萃取部分，此部分可增加造血幹細胞之再生能力，同時也保護其多潛能分化能力。

三、中藥反應於幹原細胞活性效應之基因晶片分析系統之建立

我們已建立互補核甘酸基因晶片合成，雜交反應方法及分析方法，首先以建立不同組織所分離之間質幹細胞晶體外培養後，透過晶片資料庫比較其基因表達差異為基礎，提供將來研究中藥對於組織間質幹細胞之體外分化能力與基因表達之關聯性探討之用，進一步作為中藥藥效對幹細胞分化潛能之比較與機制分析（圖十八）。

肆、討論

早期幹原／前驅細胞是成體組織一切成熟功能性細胞之源，為了解中藥對於幹細胞之作用於基因體表達及分子機制，與臨床應用相輔相成，增加中藥在臨床上之應用範圍及中藥基礎藥理之細胞反應機制，我們於第一年計畫執行十個月中建立一系列針對幹細胞對中藥藥理作用檢測系統之反應，做其生長、增生及分化之影響分析。我們得到的初步結論是測試的中藥西洋參、柴胡、三七、薏仁殼、黃耆、藥性溫和，對於細胞不具毒性，必須輔以適當之生長激素，但長時間培養對於幹細胞之生長並未觀察到顯著幫助。而所測試之中藥以紅景天之藥效最明顯，在低濃度時對於幹細胞有促進造血幹細胞生長，增快血球細胞分化的效果，但高濃度時則會抑制細胞生長，誘發凋亡。此藥材不僅對造血幹細胞有影響，同時對於間質幹細胞亦有分化潛能之影響。對於造骨質、脂肪前驅細胞之分化有促進或抑制之效果。但目前檢測到紅景天酒精萃取的成分高劑量下對細胞具有毒性，顯示活性效用主要是來自水溶性成分。除天然中草藥外，人工合成之中藥衍生物如三七之作用成分對於間質幹細胞之神經分化有輔助的功能，其如何影響幹細胞之生長分化活性將有待進一步探討。

根據現有的結果顯示，藥性屬溫之中藥並不一定會影響細胞數量來間接改變個體生理，而藥性屬寒之藥物如紅景天也可能具備增進細胞生長能力之成分，如何萃取其有效成分，透過藥物影響幹細胞基因體表達分析了解其藥理之分子機制，將是本計畫之下一項目標。

伍、結論與建議

本計劃於第一年執行期間已完成初步細胞培養與中藥活性及基因體影響分析平台，也篩選出具有影響幹細胞生長及分化的藥物如紅景天。幹細胞之培養材料單價昂貴、而且數量稀少必須耗費許多細胞檢體及組織分離試劑才能收集到足量幹細胞進行重複性試驗。就群落生長試劑為例每毫升成本需 300 元加上細胞檢測需耗費價昂之抗體及細胞激素，於有限之經費預算，深感於現有之經費及資源受限，若再減少本計畫之經費，將對計畫執行有相當程度之困難。

誌謝

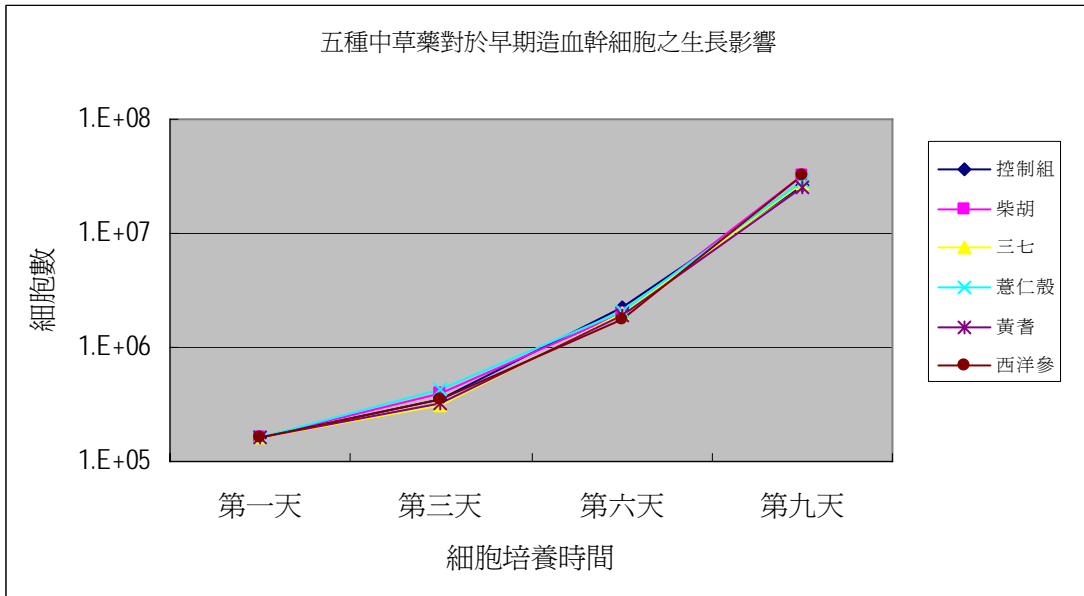
本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號 CCMP92-RD-021 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

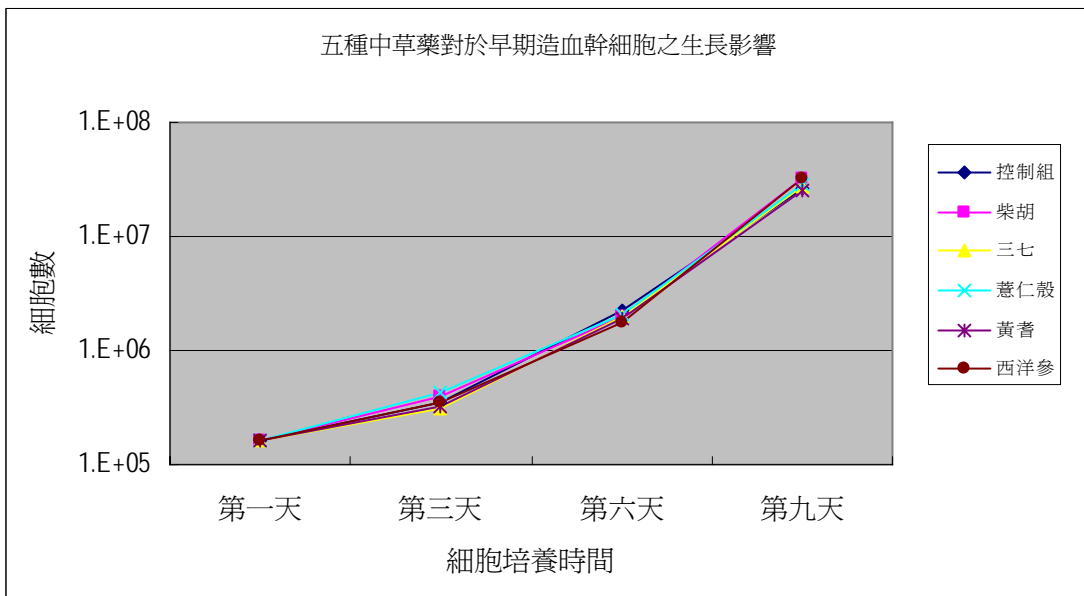
1. Bianchi Scarra` GL, Romani M, Coviello DA, Garre C, Ravazzolo R, Vidali G and Ajmar F (1986) Terminal erythroid differentiation in the K-562 cell line by 1-b-D-arabinofurano-sylcytosine by c-myc messenger RNA decrease. *Cancer Res* 46: 6327 - 6332.
2. Bjornson, C.R., Rietze, R.L., Reynolds, B.A., Magli, M.C. & Vescovi, A.L. (1999) Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 283, 534 - 537.
3. Clarke, D.L. et al. (2000) Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 288, 1660 - 1663.
4. Detmer K, Walker AN, Jenkins TM, Steele TA, Dannawi H. (2000) Erythroid differentiation in vitro is blocked by cyclopamine, an inhibitor of hedgehog signaling. *Blood Cells Mol Dis.* 26(4): 360-72.
5. Ferrari, G. et al. (1998) Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 279, 1528 - 1530.
6. 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.
7. Gambari R, del Senno L, Barbieri R, Viola L, Tripodi M, Raschella` G and Fantoni A (1984) Human leukemia K-562 cells: Induction of erythroid differentiation by 5-azacytidine. *Cell Differ* 14: 87 - 97.
8. Gussoni, E. et al. (1999) Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 401, 390 - 394.
9. Hasinoff BB, Abram ME, Barnabe N, Khelifa T, Allan WP, Yalowich JC. (2001) The Catalytic DNA Topoisomerase II Inhibitor Dexrazoxane (ICRF-187) Induces Differentiation and Apoptosis in Human Leukemia K562 Cells, *Mol Pharmacol*, Vol. 59:453 - 461, 2001.
10. Hisha H. Yamada H. Sakurai MH. Kiyohara H. Li Y. Yu C. Takemoto N.

- Kawamura H. Yamaura K. Shinohara S. Komatsu Y. Aburada M. Ikehara S (1997) Isolation and identification of hematopoietic stem cell-stimulating substances from Kampo (Japanese herbal) medicine, Juzen-taiho-to. *Blood*. 90(3): 1022-30.
11. 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.
 12. Jackson, K.A., Mi, T. & Goodell (1999) M.A. Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle. *Proc. Natl. Acad.Sci. USA* 96, 14482 - 14486.
 13. Lagasse, E. et al. (2000) Purified hematopoietic stem cells can differentiate to hepatocytes in vivo. *Nature Med*. 6, 1229 - 1234.

柒、圖、表



圖一



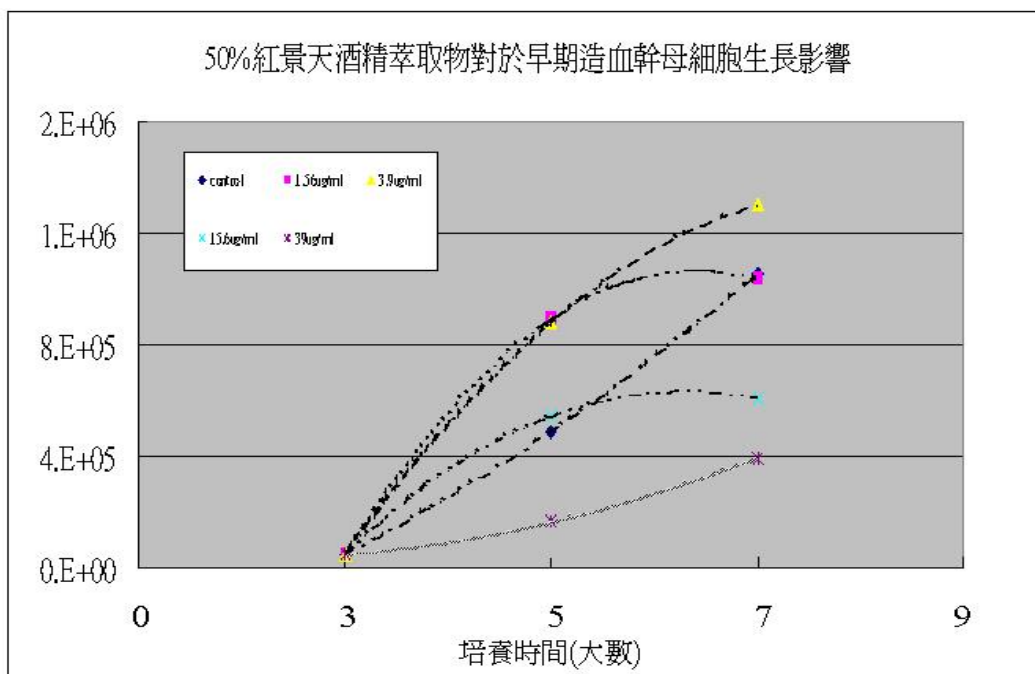
圖二

中藥對於造血血球系及血管內皮細胞之特定分化抗原標誌表達影響						
		控制組 Ctrl	西洋參 (PQ)	三七 (PN)	柴胡 (BC)	薏仁殼
髓性/淋巴性血球系	CD33	65%	—	—	—	—
	CD19	5%	—	—	—	—
	CD3	7%	—	—	+/	—
早期幹原細胞	CD117	11%	—	+/	+/	+/
	CD34	8%	—	—	—	—
	CXCR4	9%	—	—	—	—
早期紅血球細胞	CD71	18%	—	—	—	—
	Glycophorine A	2%	—	—	—	—
	CD36	17%	—	+/	—	—
內皮前驅細胞	CD105	15%	—	—	—	—
	EGFR	6%	—	—	—	—

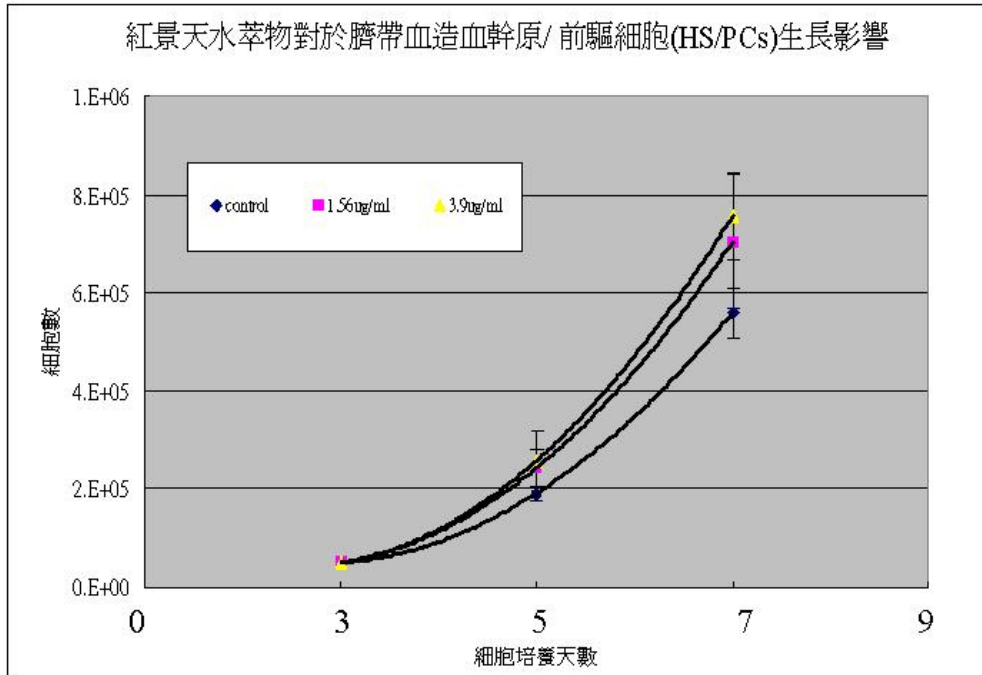
— : 相對於控制組沒有差別
 +/ : 相對於控制組增加或減少在5%~10%之間
 + : 相對於控制組增加或減少大於10%

圖三

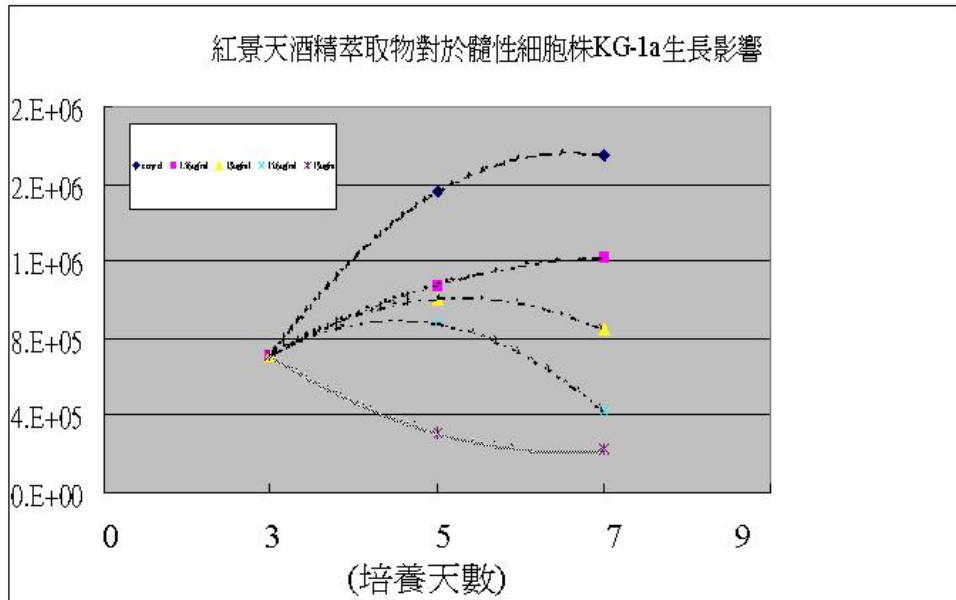
紅景天（乙醇與水萃取物）之體外培養實驗結果



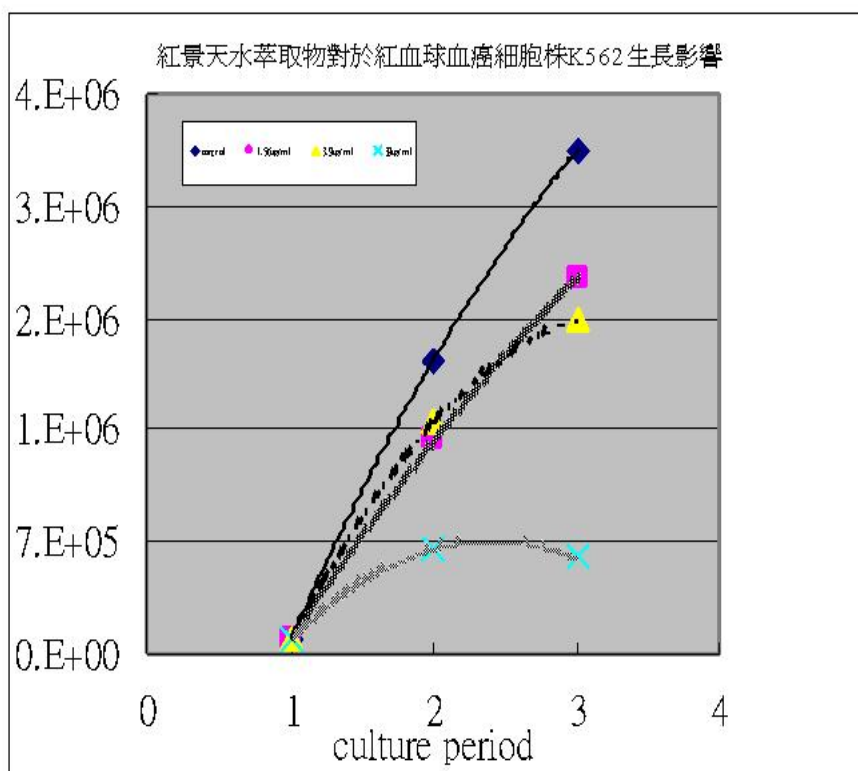
圖四



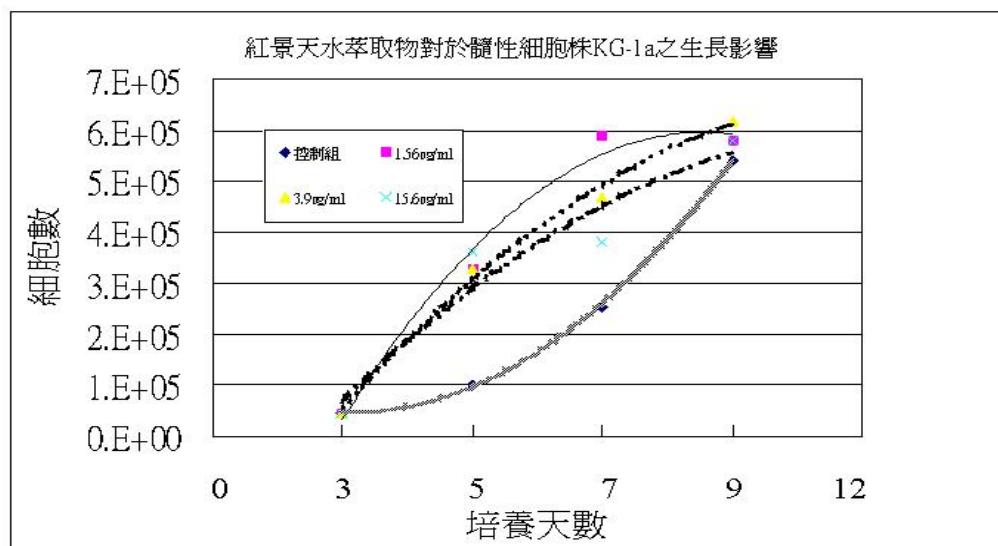
圖五



圖六

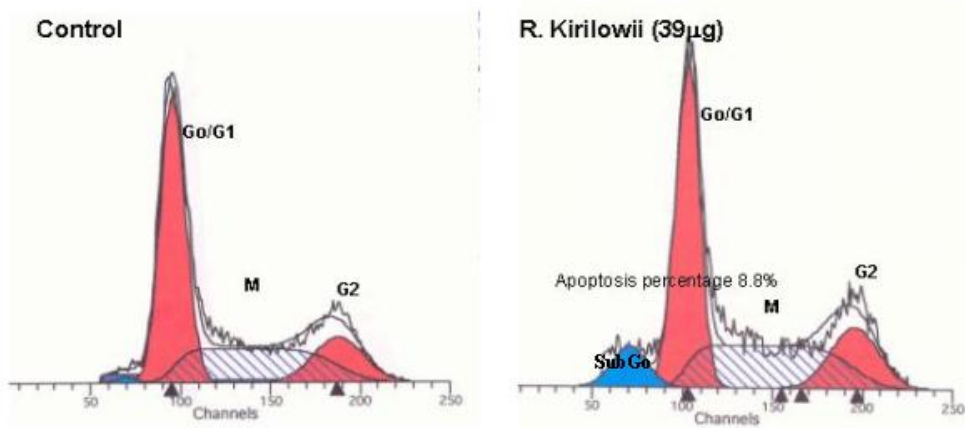


圖七



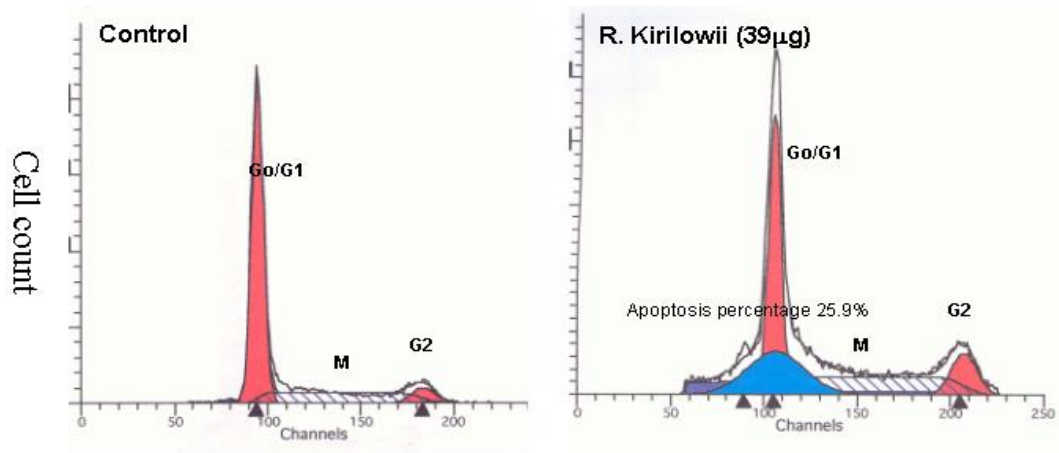
圖八

酒精萃取物對於紅血球血癌K562細胞株促進凋亡影響

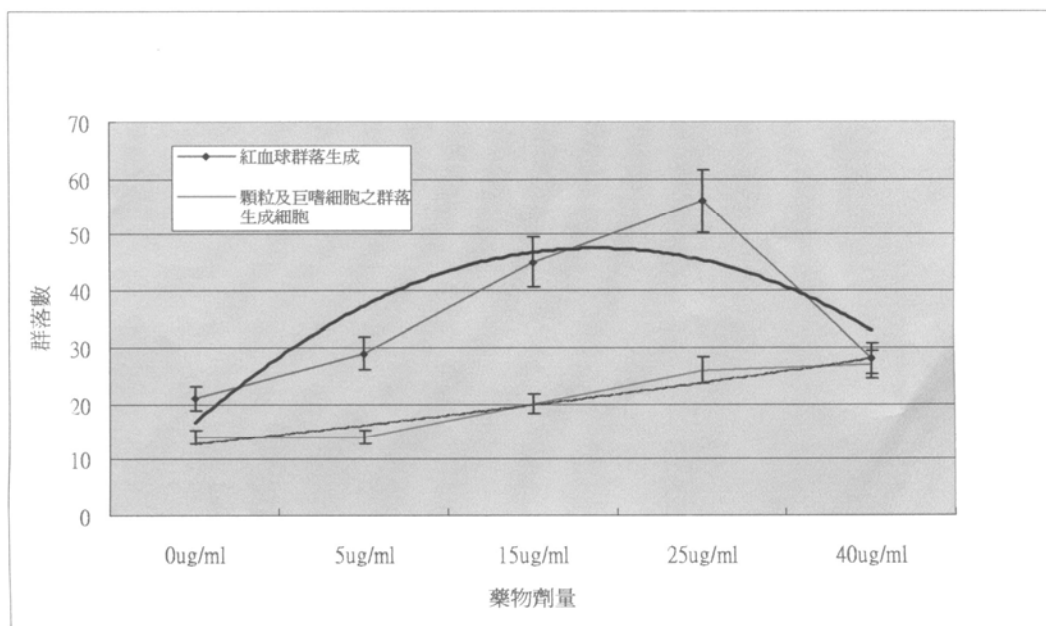


圖九

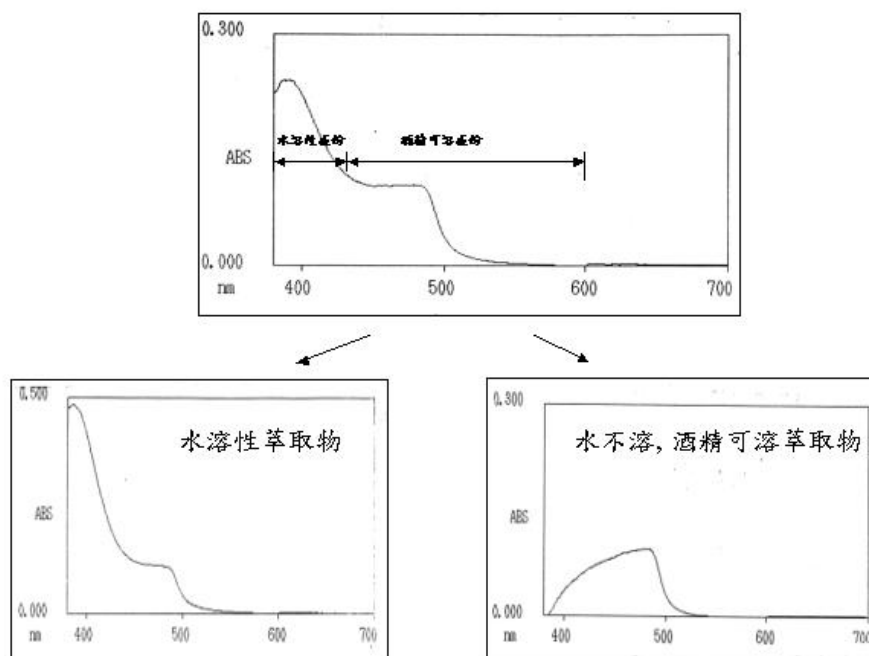
Rhodiola kirilowii (Regel) Induces Apoptosis of Myeloma cell line KG-1a



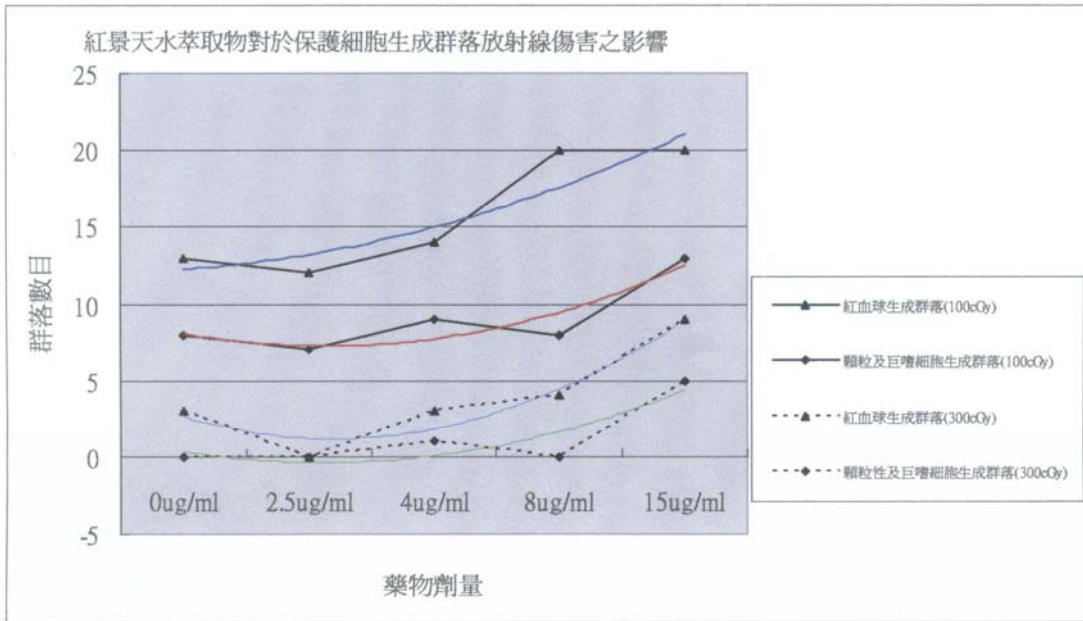
圖十



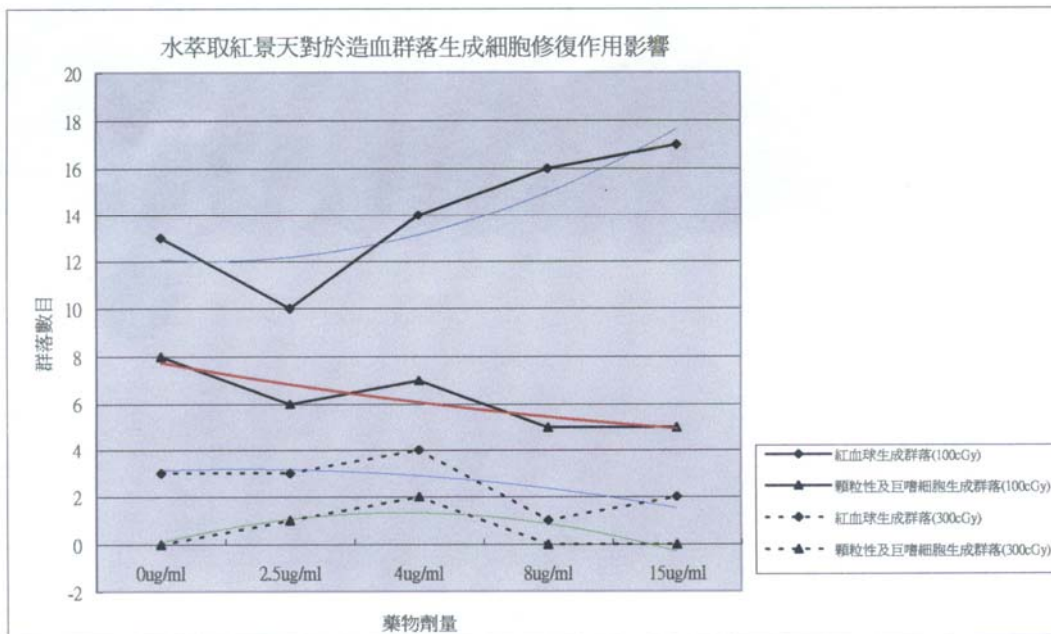
圖十一、紅景天水溶性成份增加造血群落形成之影響



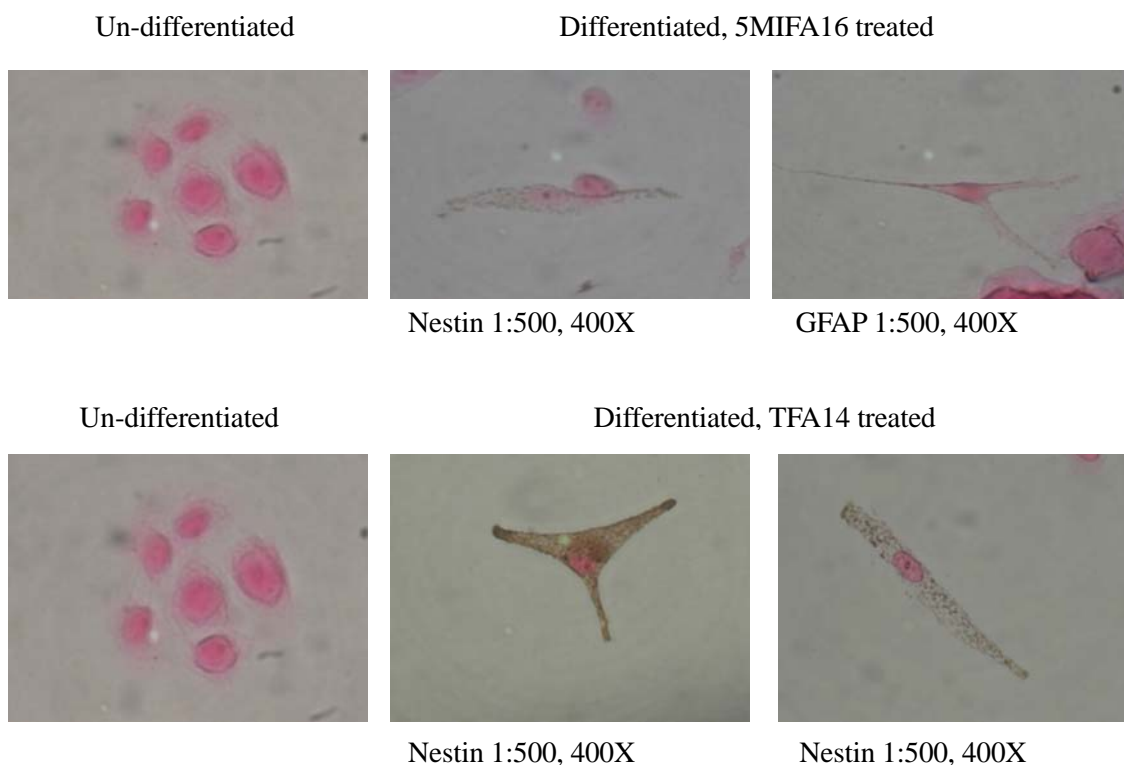
圖十二、紅景天水溶性及酒精溶解成份光譜吸收波段分布圖



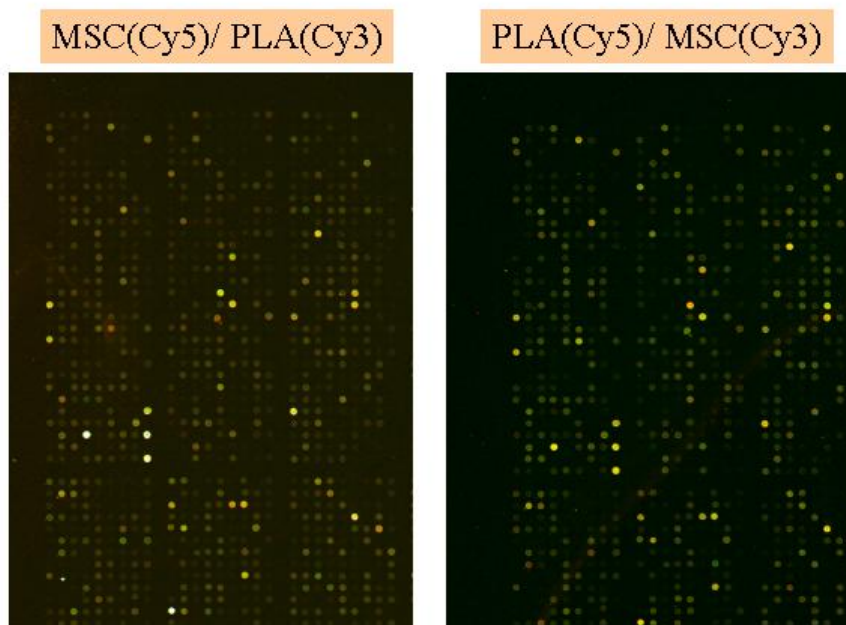
圖十三、紅景天水溶性成份對於造血群落形成細胞減低受放射線傷害之保護作用



圖十四、紅景天水溶性成份對於造血群落形成細胞遭受放射線傷害之修復效用



圖十五、中藥三十衍生物對間質幹細胞之神經分化影響



圖十六、組織間質幹細胞 cDNA 核苷酸晶片雜交反應結果

