

編號：CCMP99-RD-063

以中藥及疾病誘發之基因表現模式為基礎 建立電腦虛擬中藥-疾病配對篩選系統：以中 風治療研究為實作議題

王學偉

國立陽明大學 微生物及免疫學研究所

摘 要

不論在生物醫學及中國傳統醫學的領域中，疾病與疾病導致的基因改變以及藥物的作用等三面向的關連一直是很重要的研究目標。但是在實驗室的層級中如何篩選出適用的中草藥一直是很困難且費時費力的工作。如果能建立一個較為系統化且集中資源的篩選系統，勢必能增進藥物篩選的進程。本計畫的目的便在於建立一個“參考目錄式”的電腦虛擬化工具(Herb-Disease-Gene Pairing System，簡稱 HerbGPS)以協助研究者能更有效率地預測中草藥對疾病的療效。這個虛擬化篩選系統背後的原理十分簡單：由於大多疾病或是病源皆會造成人體基因圖譜的改變，因此若能找出適當的藥物將受影響的基因轉回原本的狀態便能達到治療的效果。在本計畫中有四個主要的目標：一、進行基因圖譜的微陣列分析以了解中草藥對基因的影響；二、結合微陣列分析的結果建立一個電腦虛擬的中草藥篩選系統；三、利用系統生物學的工具探討藥物與訊息傳導及蛋白之間的關聯網絡；四、利用急性缺血性腦中風的小鼠模型檢測 HerbGPS 篩選中草藥對中風的治療效果。HerbGPS 系統的建立可以提升中藥醫學基礎機制研究的進程，同時對於現存的中草藥也提供了尋找新的治療標的的可能性。

在本計畫的研究中，首先利用補陽還五湯做為治療急性缺血性腦中風的中藥治療模型。並以微陣列晶片分析給藥及沒有給藥的中風小鼠之間的基因圖譜差異。結果可發現就轉錄體基因圖譜的策略可找出補陽還五湯對於中風小鼠的作用分子，進而推測其作用機制。同時亦進行天麻鉤藤湯、血府逐瘀湯、聖愈湯等藥方對於中風小鼠的基因圖譜差異比較並納入所建置之 HerbGPS 資料庫中。目前資料庫的建置除已施行之中藥方劑外業已完成人類疾病資料的蒐集，期能進一步納入更多中草藥的微陣列晶片資料始能發揮最大之效益。

關鍵詞：中風、資料庫、中草藥、基因微陣列

Number: CCMP99-RD-063

Applying Chinese Herb and Disease-induced Gene Expression Patterns to Create a Virtual Drug-Disease Pairing System: Stroke Therapy as a Scenario

Hsei-Wei, Wang

National Yang-Ming University Institute of Microbiology and Immunology

ABSTRACT

Connecting a disease with a disease-modifying gene product and herbal modulators of those proteins is one of the major aims of biomedical research and is the core business of Chinese medicine. But laborious screens of Chinese herbal libraries remain a daunting task. It's better to make this screening process systematized and centralized by something resembling an internet search engine. The purpose of this project is to establish a "reference catalogue" computer tool (the Herb-Disease-Gene Pairing System, HerbGPS in short), which implements with a big herbal-disease gene pattern database and pattern-recognition algorithms, for prediction the efficacy of Chinese herbs on diseases. The principle of this tool is simple: since diseases or pathogens disturb the cellular gene expression patterns, all we need to do is to find a herbal product which can tune them back. There are 4 goals in this project: (1) To apply gene expression microarray to obtain herb-induced genes; (2) To combine array data for constructing an *in silico* Chinese herb screening system; (3) To apply systems biology tools for exploring pathway-drug and protein-drug networks; (4) To demonstrate the therapeutic effects of screened Chinese herbs for acute ischemic stroke in a mice middle cerebral artery occlusion (MCAO) model. HerbGPS will accelerate the basic mechanistic research of Chinese herbal medicine and discover the novel applications of existing Chinese herbal products.

In our study, we use Bu-yang Huan-wu decoction as herb therapy model to treat ischemia stork mice. Microarray analysis is applied to compare genomic pattern between ischemia mice with or without herb treatment. Our results showed that system biology strategy is workable to find out differential expressed genes which are

effective in herb treated ischemia mice and further pathway analysis also indicate possible mechanism which is responsible for herb therapy. We included these microarray data to construct HerbGPS database together with disease microarray data collected from previous reports. If possible, we hope to collect more herb medicine treated microarray data to complete our HerbGPS database and to be applied into further Chinese herb medicine study.

Keywords: Stroke, Database, Herb, Microarray

壹、前言

一、本計畫施行之背景及重要性

(一) 現代基因體及生物資訊工具於新藥開發上之應用

找出人類疾病與基因變異間之連結進而找出相關聯的治療藥物在生物醫學的領域中一直都是很重要的議題。然而如何找出三者之間的關連雖然重要但也充滿了困難，部分的原因是因為這樣的研究需要各方面的不同專業從不同面向相互整合的。傳統的研究策略上，各個研究者往往在不同的實驗系統中利用不同的研究方法進行中草藥或是合成化合物甚至基因療法的篩選。然而這樣的研究策略所耗費的時間及資源的相當龐大，而且往往會有研究資源重複浪費的狀況。為了傳統醫學的發展，我們需要應用更系統化的研究方法讓研究資源能更集中，因此電腦虛擬化系統及生物資訊學的工具將是藥物開發研究上的新選擇。

中草藥的應用已經在許多疾病的治療上展現良好的療效，然後絕大多數背後的機制，尤其是中草藥所引起的基因調控及訊息傳遞路徑的控制仍不清楚。相較於化學合成的單方藥物，大部份的中草藥皆為複方，內含的成分相對複雜甚至仍有許多未知的成分，因此較難藉由傳統假說驅動的策略研究其作用機制。然而在現今後基因體時期的認知中，器官或細胞對於刺激的反應，包含中草藥的刺激皆可以視為基因表現圖譜之總和的結果。因此將中草藥所引發的表現行轉譯為基因表現的圖譜(或是分子指紋)在現今的技術下已是可行的，甚而可藉此建立中草藥治療與基因表現結果之對應資料庫。在這樣的架構下我們可以將中草藥的行為機制及疾病的致病機轉及基因的功能表現等三方面皆轉化為相同的基因體型的描述。從而讓研究者可以更容易的將中草藥的作用機制與疾病的機轉連結起來，甚至可以與西方醫學所使用的小分子化學合成藥物互相連結比較(參考附圖一)。

提出本計畫的精神在於：既然疾病發生的原因在於健康細胞中原本的基因表現圖譜因為受到致病源的影響而改變，我們所要做的就是利用中草藥或是化學合成藥物讓細胞內的基因表現回復正常的狀態。(如圖二所示)因此我們必須知道疾病相關的基因表現圖譜以及中藥或化合物對於細胞內基因表現圖譜的影響。如此一來，當要治療特定疾病的時候，我們只需要在已知的資料庫中找出可以引發逆向反映的化合物或中草藥以逆轉造成疾病的基因圖譜變化。而

這些從資料庫中找出的化合物或中草藥可以先在細胞培養或是實驗動物的模型下先行檢驗療效。除了原發性的疾病之外，這樣的電腦虛擬化篩選系統亦可應用在次發性的疾病（例如復發的腫瘤）或是具有抗藥性的細胞上。這樣的電腦化生物資訊工具可以大幅幫助中草藥醫學在基礎機制上的研究，同時也可以協助拓展已知中藥的療效已應用在新的疾病上。基於以上理由，本計畫中希望建立一個參考目錄式的電腦資訊工具，同時具有中藥-疾病基因圖譜之對應資料庫及模式辨認的演算法則雙重功能的系統，我們目前稱之為 Herb-Disease-Gene Pairing System (HerbGPS)。

(二) 現存之相似新藥開發工具

以生物晶片為基礎的基因表現圖譜研究長久以來已經應用在許多方面，例如訊息傳導路徑之機制探討、疾病的次分類探討甚至腫瘤預後的預測等等。目前國外已經發展出一些針對化學合成物的工具，用來尋找具有治療潛力的藥物。與本計畫相關之工具如下：

1. 酵母菌之基因表現編彙(Gene-expression compendium of Yeast)：

利用基因表現圖譜做為研究開發用途的概念最早是由 Hughes 等人所提出的。他們的研究中蒐集了大量的酵母菌突變株的基因圖譜資料，同時也利用各種藥物處理野生株酵母菌並蒐集其基因圖譜資料。在他們的研究成果中利用所蒐集的資料建立了龐大的資料庫並以之發現過去研究中未知的基因功能，甚至標定出過去未知的分子化合物的作用標的蛋白(1)。

2. Iconix's DrugMatrix rat datasets：

這是一個由 Iconix 公司所開發的資料組，乃利用數百種已知藥物處理大鼠的組織然後分析其基因圖譜的變化。這個商業資料組可以用來鑑定新種化合物的潛在毒性(2,3,4)。

3. 關聯性圖譜(Connectivity Map)：

關聯性圖譜是由美國麻省理工的 Broad Institute 及哈佛大學所共同建構的。這個資料庫是利用具有生物活性的小分子化合物處理各種人類細胞株，並進行全基因體的轉錄表現分析，根據所得的資料建構的資料庫(5)。這個計畫中同時建立了模式匹配的演算法則，可藉此分析藥物、基因及疾病之間交互影響之有效價度。在他們所發表的案例中，成功找到兩個過去並不了解其功能的天然物具有抑制 androgen-receptor (AR) 下游的訊息傳導的功能(6)。另外在另一組案例中也發現一個藥物能夠逆轉急性淋巴細胞白血病細胞對糖皮質激素的抗性(7)。上述的成功案例加強了我們

對於本計畫之可行性的信心，更進一步配合以中草藥為標的的資料庫，我們可以找到中藥與西方化學藥物之間相同或是相似的驅動機制。這對於已知中草藥的新應用發展有極大的擴展空間。

(三) 資料庫建立及基因晶片整合分析

而在近期，史丹佛大學的 Butte 及其研究團隊所發表的兩篇文章更證實了此另用生物資訊學的方法來發現老藥新用途的可行性(8, 9)，該研究團隊在公開資料庫 GEO 中收集了一百種疾病的基因表現圖譜，結合 Connectivity Map 中 164 種藥物的基因表現圖譜進行演算。基於圖三的概念，研發了一種將某種藥與某種特殊疾病進行匹配的方法。他們假設，通過確定某一特別藥物會使某些基因被啟動而某些基因被關閉，以及知道這種情況恰好是近似於某種疾病中所發生的相反情況，那麼這種特別的藥物或許可以幫助治療該疾病。該研究小組給比較過的每一對可能的藥物和疾病的基因表現特徵發展出了一種類似的評分。其結果從+1(基因表現特徵完全相關)至-1(基因表現特徵正好相反)。如果某種藥物有類似-1的評分則預計可有效地治療一種疾病。利用這樣的概念他們預測了抗潰瘍藥物 Cimetidine 可以用來治療肺癌，並且在其細胞及動物實驗中證實其有效減緩癌細胞的生成。另外也找出癲癇用藥 Topiramate，也可應用於發炎性腸病(Inflammatory Bowel Disease, IBD)，並在 IBD 的動物模型中(TNBS-induced Rodent model of colitis)檢驗 Topiramate 的療效，和原本 IBD 中使用之藥物 Prednisolone 的結果一起比較，有相似的治療效果。對於這兩篇論文的結果在今年十月份的 Nature Review Genetics 和 Nature Review Drug Discovery 中皆有特別介紹，認為是生物資訊方法應用於藥物法展的良好範例(10, 11)。

過去十年中研究基因表現的微陣列系統已經被廣泛地擴展了我們對於人類疾病的分子遺傳機制。研究人員上傳了大量的基因晶片的資料到公開的資料庫中，例如 GEO (Gene Expression Omnibus) 和 ArrayExpress。因此集結這些臨床的基因表現資料進行整合分析(meta-analysis)，讓結果更具有統計意義，且其在臨床上更具有適用性，為研究疾病基因表現重要方法之一。這種方法不僅可以避免花大量時間和金錢重新做實驗，並且也可以藉由包容多個研究而達到擴大檢體個數的目的。因此微陣列整合分析隨著微陣列研究的蓬勃發展而越顯得重要。但是從公開的資料庫(如 GEO 和 ArrayExpress)擷取所需要的資料有著許多實務上的問題對於進行基因晶片的整合分析上仍是具有相當的難度。另外，資料的處理方式和品質對於

整合分析的結果也有著重要的影響。因為不同研究者處理數據時可能會採取不同的演算法進行數據處理，而經過不同數據處理流程的數據是無法互相比較的，因此最好的做法是擷取到各個研究者之原始數據再進行統一化的數據前處理。在基因晶片整合分析中雖然整合了很多不同的實驗擴大了檢體個數，但是也會導入了各個實驗間的誤差。前人的研究中已指出，如在數據歸一化(normalization)時納入品質不好的數據則會影響歸一化的效率(12)，因此對於所收集之數據做品質控制，則至關重要。在整合分析中每個步驟都需相當的知識及人力才能進行。尤其不同基因晶片的平台統整的困難，不同數據處理方法的統合和先前研究中檢體臨床資訊的不易判別，使得分析這些公開資料十分的不易並且具有相當高的技術門檻(13)。

(四) 中草藥對於中風之治療

基於計畫規模的限制，我們無法大規模的將所有中藥材皆納入所規劃的資料庫中。因此現階段我們將致力於建立篩選的基礎架構，我們將會需要利用動物或是細胞培養的系統來確立電腦虛擬篩選的效果，並確定篩選所得的藥物的確有預期中的療效。本實驗室過去與合作實驗室已發展出中風相關的動物實驗系統，且已經有數種已確認有效的治療藥物。因此我們將從中風相關的動物實驗系統著手，經由中風相關藥物的處理後，利用本計畫中建立的篩選系統評估實際應用的可能。

以傳統醫學觀點來看中風的發病原因主要在於機體臟腑失調、陰陽有所偏盛進而誘發氣血逆亂。真中是由脈絡空虛，風邪入中所致的外感；類中是陰虛陽亢從而陽化風動，挾痰火之邪流竄於經絡或矇蔽清竅所致。類中依有無神志的改變又分為中經絡與中臟腑。中經絡又分為外風內風，外風有外感的症狀，治療上宜疏風解表，和營通絡；內風常有先兆症狀而無外感症狀，治療宜滋陰潛陽，鎮肝熄風。中臟腑的主要臨床表現為卒然昏倒，不醒人事，有閉、脫證之分。閉證又依其熱象的有無分為陽閉與陰閉。治療上，陽閉應予辛涼開竅，清肝熄風；陰閉宜辛溫開竅，豁痰熄風。脫證則是元氣頹敗、陰陽即將離絕之證，治療宜回陽救逆，扶正固脫。至於中風的後遺症狀，多由邪留經絡、氣血不通所致，用藥應以活瘀祛痰、疏通經絡為主，其中以活血化瘀療法為最重要；在活血化瘀同時要分辨其風、火、痰、虛的偏盛情況，偏於氣滯者要重用理氣化瘀藥如川芎、遠志、石菖蒲，偏於血瘀者要重用行血化瘀藥物如三七、紅花、桃仁。中風到目前為止在西方醫學臨床上除了血栓溶解

劑 rt-PA (recombinant tissue type plasminogen activator)對部份(<5%)病人有些許效果外，並沒有其他有效治療藥物。

因此，今日中西醫學各自有一套對腦中風的治療方式和病機的不同見解，並各自存在著一定程度的效果，其中必然存著一些共同的病機和有效的藥物可以產生療效的共同機轉。因此我們嘗試著使用有關傳統醫學中治療中風的複方例如補陽還五湯、大蒼芫湯、天麻鉤藤飲等，以現代醫學的外科手術的方法下所導致的腦梗塞來檢驗其藥效，一方面檢驗傳統醫學中『氣』、『血』兩大系統兩大用藥理念所在，一方面也藉由基因表現微陣列分析(gene expression microarray; GEM)來探討複方中藥可能的作用訊息逕路(pathways)，最終擬將其發展成為治療缺血型中風相關的藥物，並建立缺血型中風有效藥物的篩選平台。

二、研究目標

本研究之長期目標為建立系統化之預測及評量系統以了解中草藥產品於活體內之功能，同時了解其於基因層次之機制。

研究目標細項：

- 目標 1：進行 gene expression microarray (GEM)之分析以獲得中草藥產品引發之基因圖譜變化。
- 目標 2：結合生物晶片分析之結果建立中草藥之電腦虛擬篩選系統。
- 目標 3：利用系統生物學的工具探討藥物與信息傳遞路徑之間以及藥物與蛋白質之間的聯繫網絡，並嘗試找出受中草藥影響之傳遞網路與受調控蛋白之間的交互作用。
- 目標 4：利用大腦動脈阻塞之中風小鼠模型(middle cerebral artery occlusion (MCAO) model)闡明中草藥對於急性缺血性腦中風之治療效用。

貳、材料與方法

一、中草藥之制備

本計畫中採用之中藥方劑為補陽還五湯、天麻鉤藤湯、血府逐瘀湯、聖愈湯。制備方式參照過去發表的期刊論文(14)。補陽還五湯主成分包括黃耆、當歸、赤芍、川芎、桃仁、紅花、地龍等。將上述藥材以 120:10:10:10:10:10:4.5 之比例混合後加水煮開於 100°C 煮沸 30 分鐘兩次後，所得之湯藥溶液經低溫真空乾燥取得萃取物的粉末，再以 2.0g/ml 的濃度溶解於水中即可使用。

二、中風小鼠實驗模型

本計畫中所有小鼠動物實驗之進行皆遵照國家衛生研究院所頒佈之實驗動物照護及施行規則進行。引發小鼠的腦部缺血性中風的方式是遵照前人所發表的報告 (15)。然後將中藥餵食給腦中風的小鼠，評估療效的方式遵照過去神經行為學的功能測試 (16) 並已 Kaplan-Meier 存活分析進行評估。行為學上的測量包含 cylinder test (17), rotarod test (18) 以及 single-pellet retrieval task (19, 20) 等，這些測驗皆會在進行 MCAO 之前後五周每周進行一次。同時亦會以 magnetic resonance imaging (MRI) 或是 positron emission tomography (PET) 等影像技術進行多面向的測試。這些技術所需之儀器設備皆可在陽明大學的儀器中心取得使用。而神經系統的再生及附元以同時以神經專一的標記蛋白(例如：neural filament 或是 TuJ1 等蛋白)進行免疫螢光染色或是組織染色的分析。

三、資料收集與數據前處理

我們建立之基因晶片整合分析流程可劃分為幾個步驟(圖四)，搜尋可用之數據，數據截取，數據前處理(data pre-processing)，數據篩選(filtering)。我們只針對 Affymetrix U133 系列基因晶片平台所產生的臨床基因表現資料來收集，主要是因為這個系列之基因晶片為最多人使用，其佔了所有商用的基因晶片平台之比例約八成以上，所以已經有許多現有開發好的程式可以使用，不需再用自行開發，再者使用同一平台之基因晶片可以避免跨平台的差異，必須先把基因晶片探針(probe)的數值轉換成基因的表現量，但是探針對於基因之註解是多對多的關係，因此這成為跨平台比較很麻煩之困難點之一，但是在同一平台上則可必免掉這個問題。再者同一平台下可採用相同的數據處理，也避免了不同演算法所造成之差異。在數據前處理上，根據前人的研究已明確的建議再做基因晶片整合分析時最好從原始數據開始著手，因此所有的實驗原始數據統一由三種最常用之演算法處理：MAS5，RMA 和 GC-RMA。MAS5 為 Affymetrix 公司自己針對旗下基因晶

片所開發之演算法，而RMA與GC-RMA皆基於為多片處理(multi-array basis)之概念，因此所有屬於同一平台下的基因晶片皆統一一次進行數據前處理以減少誤差。

四、臨床檢體註解

雖然在最小基因晶片資訊的規範下，研究者會上傳檢體之敘述，但是因為無明確之規範及固定之格式，因此每個實驗所有之敘述，和專有名詞並不統一，這在搜尋上會造成相當的困難，因為同一疾病的檢體在不同研究者的敘述中可能使用不同的名詞。我們藉由人工方式找出每個實驗有用的臨床資訊，且使用常用本體(ontology)的受控字彙(control vocabularies)來註解。如圖四所示，每一個檢體皆由五個特性來描述：Disease state, Disease State Suppl., Disease Location, Organism Part 和 Organism Part Subtype。Organism Part 和 Organism Part Subtype 為針對檢體在人體所取得之位置。而 Disease state, Disease State Suppl.,和 Disease Location 是針對病人之身理狀態的敘述。

五、數據之品質控制

針對單片基因晶片之品質控制，我們採用已發表之針對 Affymetrix 晶片之三種演算法(21, 22, 23)，這三種演算法皆利用 Affymetrix 建議的一系列之品質控制因子(factor)來敘述基因晶片雜交結果。針對基因的品質篩選則使用 MAS5 演算法中的 MAS5Call，其可以最為基因是否有表現的基準。另外也使用 LEV 來判斷 RNA 標定的效率及 RNA 本身的品質(24)。

參、結果

一、以生物晶片分析中風小鼠經投藥後產生之分子指紋差異

本計畫中我們設定的第一個目標為比較中草藥對於體內分子指紋圖譜的影響。我們採用了中風小鼠的模型並投以補陽還五湯、天麻鉤藤湯、血府逐瘀湯及聖愈湯的萃取物觀察其對於中風治療在分子層次上的影響。其中補陽還五湯成員已發表 (Journal of Ethnopharmacology, 2011 Jul 8. [Epub ahead of print]; PMID: 21784143)。



Deciphering the neuroprotective mechanisms of Bu-yang Huan-wu decoction by an integrative neurofunctional and genomic approach in ischemic stroke mice

Hsei-Wei Wang^{b,1}, Kuo-Tong Liou^{c,2}, Yea-Hwey Wang^{e,2}, Chung-Kuang Lu^{a,*}, Yun-Lian Lin^{a,1}, I-Jung Lee^a, Sheng-Teng Huang^f, Yuan-Hau Tsai^b, Yi-Chieh Cheng^b, Hung-Jui Lin^b, Yuh-Chiang Shen^{a,d,**}

^a National Research Institute of Chinese Medicine, Taipei, Taiwan

^b Institute of Microbiology and Immunology, National Yang-Ming University, Taipei, Taiwan

^c Department of Chinese Martial Arts and Graduate Institute of Sport Coaching Science, Chinese Culture University, Taipei, Taiwan

^d Institute of Biomedical Sciences, National Chung-Hsing University, Taipei, Taiwan

^e Department of Biotechnology, College of Medicine and Nursing, Hungkuang University, Taichung, Taiwan

^f Department of Chinese Medicine, Kaohsiung Chang-Gung Memorial Hospital and Chang-Gung University College of Medicine, Kaohsiung, Taiwan

此論文中首先將受試小鼠分為三組，分別是 1. 控制組(Sham)，2. 中風誘發組 (cerebral ischemic/reperfusion (CI/R)) 以及中風誘發並給藥組 (+BHD)。分別在進行中風誘發後取得小鼠的受傷區域腦組織抽取 RNA，然後以之進行生物晶片的實驗及後續分析。由三組生物晶片的實驗結果進行交叉比對分析，我們可以看出有 377 組探針標記因受到補陽還五湯的影響產生明顯改變(圖五 A)。而以 PCA (principle component analysis) 分析可發現中風小鼠經由補陽還五湯之投藥處理後分子圖譜的表現明顯與控制組較為趨近(圖五 B, C)，顯示出補陽還五湯對於治療中風小鼠的作用。進一步的熱圖分析可看出有 93 組探針組在給藥組及控制組中是明顯上升的而另外 284 組因誘發中風而表現上升的探針組則明顯在給藥後即受到抑制(圖五 D)。

二、中草藥影響之傳遞網路與受調控蛋白之間的交互作用

接著我們應用功能性分群的分析工具進一步探討受到補陽還五湯影響

的基因之間相互的調控關係。根據基因本體(GO, Gene Ontology)資料庫的分析，受到補陽還五湯正調控的基因有顯著的部分是參與幫助神經細胞新生或是神經系統的發展(圖六 A, B)。而另一方面投以補陽還五湯而造成負向調控的基因則有一群主要分屬於發炎反應與受傷相關的功能上，顯示出補陽還五湯可以有效抑制中風小鼠受傷區域的發炎反應以達到保護的作用。除此之外，一些與急性發炎反應(acute inflammatory response)相關的基因例如 Tlr4 (toll-like receptor 4), Cd163, Indo, Fcgr3 and Il6 等亦出現在補陽還五湯負調控的基因清單中。詳細的基因本體細項則分列於表一及表二中。我們更進一步利用篩選出來的基因清單進行基因網絡的關聯性分析。利用 IPA (Ingenuity Pathway Analysis)軟體進行分析，我們發現受到補陽還五湯正調控的基因並不能形成有意義的基因網絡，然而受到負調控的基因卻可以形成一個以 126 個基因串連而成的基因網絡(圖六 C)。在這個網絡底下包含有細胞激素(cytokine)、趨化素(chemokine)、生長因子(growth factors)等等，且都屬於缺血性中風反應及發炎反應相關的調控路徑下。分析結果也顯示這樣的基因網路中間有一些相對重要的”樞紐”基因，包括 Myc, Cd151, Il6, Icam1, Jun, Itgb1, Nos3, Edn1, Sdc1, Mmp9 等等，可能扮演著重要的居中調控的角色。

三、資料庫建立

我們建立一個針對臨床的微陣列資料庫其中包含了超過 10,000 個臨床檢體(詳細檢體總覽請見表三)，並且包含了我們自己進行的 12 片中草藥之基因晶片(補陽還五湯 2 片、天麻鉤藤湯 2 片、血府逐瘀湯 2 片、聖愈湯 2 片、中風小鼠 2 片、控制組正常小鼠 2 片)。我們再進行統一化的資料處理，並且進行品質控管來達到減少資料分析上所產生的誤差。最後建立一個網站讓研究者可以輕易的找到所需要的資料，選擇資料處理的方法，去除品質不好的數據，最後經由網頁連結下載(圖七)。另外在針對公開資料庫中關於中草藥實驗之基因晶片共 160 片，因為其使用之基因晶片平台多不一致，因此我們另外特別收錄(表四)。

肆、討論

補陽還五湯在過去的文獻報導中已有研究團隊利用中風大鼠的實驗模型顯示具有保護神經系統的功能。然而過去尚未有以基因體分析的角度探討其保護神經的機制為何。在本計畫的第一個部分中，我們首先利用小鼠的中風實驗模型探討補陽還五湯對於中風小鼠保護作用的分子機制。按照計畫中設定的目標我們先進行了生物晶片的實驗，收集了中風小鼠、給藥組及控制組的檢體進行生物晶片的分析。從我們的結果中可以看出中風小鼠在施以補陽還五湯的狀況下明顯具有保護神經系統的效果，且可大幅增加小鼠存活的比例與時間。補陽還五湯對於神經保護的效果在誘發中風後七天內都可以看到顯著的保護效果，比之過去已應用於中風治療的參考藥物 MK-801 及 rt-PA 更具有治療潛力，這也暗示了補陽還五湯應用的機制可能與 MK-801 及 rt-PA 不同，而是作用在其他未知的訊息傳遞路徑上。在活體小鼠的實驗中利用 PET 影像技術我們也可觀察到補陽還五湯的治療可以促使小鼠大腦發揮正常功能，並減少發炎反應及自由基反應的刺激(由 IVIS 影像技術觀察而得)。因中風導致的腦損傷主要的生理機制包括離子的不平衡、氧化/氮化壓力的刺激、發炎反應及細胞凋零導致的細胞死亡等等。這些生理機制都與 NMDA 受體的不正常活化有關。

從基因體的系統化分析可以看到經由補陽還五湯處理後，中風小鼠的基因體分子圖譜表現會趨近控制組的基因體圖譜表徵。我們利用 Gene Ontology 及 IPA 等工具的分析顯現出受到補陽還五湯影響的基因群之間的交互連結關係。由這樣子的分析技術我們可以找出藥物治療對於疾病的交互影響中居於關鍵位置的調控分子。藉由基因本體資料庫的功能性分群分析我們可以觀察到受到補陽還五湯調控的基因中有些會參與幫助神經新生的過程包括 Dcx, Fgfr3, Ctnbp2, Rorb, Abi2 及 Miat 等。參與神經系統發育的基因包括有 Ptpf, Ift172 及 Nfib。補陽還五湯亦會增加受傷區域一些保護性因子的表現例如 Frzb(frizzled-related protein, alias Sfrp3)，這是一個分泌性蛋白，會活化 Wnt 調控的存活及生長相關的訊息路徑。另一方面補陽還五湯也會降低一些與受傷反應、急性發炎反應等相關因子的表現，讓因中風而促進表現的這些因子表現量回復到與正常狀態相近。

另外我們以 IPA 工具分析(Ingenuity Pathway Analysis)，可以找到像 Myc、Il6、Cd151 等對於中風治療可能有關鍵性作用的調控基因。這樣的結果除了顯示補陽還五湯對於中風的療效之外，同時也藉此闡明基因體的系統化分析是有助於連結藥物與疾病的分子圖譜關聯性，進而幫助中草藥的新藥開發或是老藥新用的可能性。

因此在第二個部分中，除了我們自己進行的中風相關的生物晶片分析外，我們更致力於收集目前已發表的生物晶片資料。就現有可取得的臨床微陣列晶片數據，配合合於條件的中草藥微陣列晶片資料建構出可應用於藥物-疾病交互作用分析的資料庫。

伍、結論與建議

本計畫的施行可以獲得兩個主要的結論。一、補陽還五湯對於中風小鼠具有神經保護的作用。同時我們的實驗結果對於補陽還五湯的療效提供了可能的分子機制，後續可藉由對樞紐基因的調控應用於中風病患的治療。二、另一方面，延續我們對於補陽還五湯與中風研究的思考邏輯，我們希望能將這樣的分析模式套用於其他的疾病與藥物的交互作用關聯上，因此除了我們自行進行的微陣列晶片分析外也盡其所能蒐集已發表的各種疾病與藥物的微陣列晶片資料，建立出可供分析的資料庫。同時試著建立分析的標準程序以利未來使用者對於疾病與中草藥間交互作用的分析。

基於計畫規模的限制，我們無法大規模的將所有中藥材皆納入所規劃的資料庫中，因此現階段我們僅致力於建立篩選的基礎架構。將來若有機會，將致力於其他中藥材之藥物基因體研究，以充實本資料庫之內容。另一方面，本資料庫若能再增加其他生物資訊演算法(如模式辨認演算法等)，將能更便利使用者在線上即時配對出中草藥的新適應症及新用途。此部份於原本計畫書中原定於計畫第二年執行。基於計畫時程的限制，此部份有待將來增加。

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 CCMP99-RD-063 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

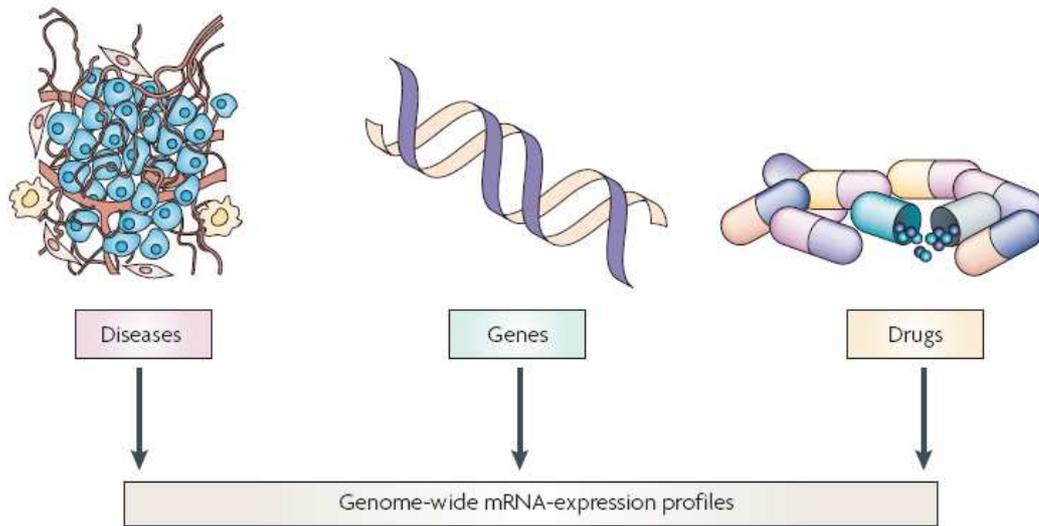
陸、參考文獻

1. Hughes TR, Marton MJ, Jones AR, et al: Functional discovery via a compendium of expression profiles. *Cell* 2000; 102(1): 109-126.
2. Fielden MR, Eynon BP, Natsoulis G, Jarnagin K, Banas D, Kolaja KL: A gene expression signature that predicts the future onset of drug-induced renal tubular toxicity. *Toxicol Pathol* 2005; 33(6): 675-683.
3. Fielden MR, Pearson C, Brennan R, Kolaja KL: Preclinical drug safety analysis by chemogenomic profiling in the liver. *Am J Pharmacogenomics* 2005; 5(3): 161-171.
4. Ganter B, Tugendreich S, Pearson CI, et al: Development of a large-scale chemogenomics database to improve drug candidate selection and to understand mechanisms of chemical toxicity and action. *J Biotechnol* 2005; 119(3): 219-244.
5. Lamb J, Crawford ED, Peck D et al: The Connectivity Map: using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease. *Science* 2006; 313(5795): 1929-1935.
6. Hieronymus H, Lamb J, Ross KN et al: Gene expression signature-based chemical genomic prediction identifies a novel class of HSP90 pathway modulators. *Cancer Cell* 2006; 10(4): 321-330.
7. Wei G, Twomey D, Lamb J, et al: Gene expression-based chemical genomics identifies rapamycin as a modulator of MCL1 and glucocorticoid resistance. *Cancer Cell* 2006; 10(4): 331-342.
8. Dudley JT, Sirota M, Shenoy M et al: Computational repositioning of the anticonvulsant topiramate for inflammatory bowel disease. *Sci Transl Med* 2011; 3: 96ra76.
9. Sirota M, Dudley JT, Kim J et al: Discovery and preclinical validation of drug indications using compendia of public gene expression data. *Sci Transl Med* 2011; 3: 96ra77.
10. Harrison C: Translational genetics: Signatures for drug repositioning. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 668-669.
11. Harrison C: Drug repositioning: Genetic signatures uncover new uses. *Nat Rev Drug Discov.* 2011; 16; 10(10): 732-733.
12. Owzar K, Barry WT, Jung SH, Sohn I, George SL: Statistical challenges in preprocessing in microarray experiments in cancer. *Clin Cancer Res* 2008;

- 14: 5959-5966.
13. Ramasamy A, Mondry A, Holmes CC, Altman DG: Key Issues in Conducting a Meta-Analysis of Gene Expression Microarray Datasets. *PLoS Med* 2008; 5: e184.
 14. Cai G, Liu B, Liu W: Buyang Huanwu decoction can improve recovery of neurological function, reduce infarction volume, stimulate neural proliferation and modulate VEGF and Flk1 expressions in transient focal cerebral ischaemic rat brains: *Journal of Ethnopharmacology* 2007; 113, 292–299.
 15. Lin TN, He YY, Wu G, Khan M, Hsu CY: Effect of brain edema on infarct volume in a focal cerebral ischemia model in rats. *Stroke* 1993; 24, 117–121.
 16. Moseley AM, Stark A, Cameron ID, Pollock A: Treadmill training and body weight support for walking after stroke. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (4): CD002840.
 17. Schallert T, Fleming SM, Leasure JL, Tillerson JL, Bland ST: CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury. *Neuropharmacology* 2000; 39(5): 777-787.
 18. Chen J, Li Y, Wang L et al: Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2001; 32(4): 1005-1011.
 19. McKenna, J. E. and I. Q. Whishaw: Complete compensation in skilled reaching success with associated impairments in limb synergies, after dorsal column lesion in the rat. *J Neurosci* 1999; 19(5): 1885-1894.
 20. Miklyaeva, E. I. and I. Q. Whishaw: HemiParkinson analogue rats display active support in good limbs versus passive support in bad limbs on a skilled reaching task of variable height. *Behav Neurosci* 1996; 110(1): 117-125.
 21. Asare AL, Gao Z, Carey VJ, Wang R, Seyfert-Margolis V: Power enhancement via multivariate outlier testing with gene expression arrays. *Bioinformatics* 2009; 25: 48-53.
 22. Cohen Freue GV, Hollander Z, Shen E et al: MDQC: a new quality assessment method for microarrays based on quality control reports. *Bioinformatics* 2007; 23: 3162-3169.

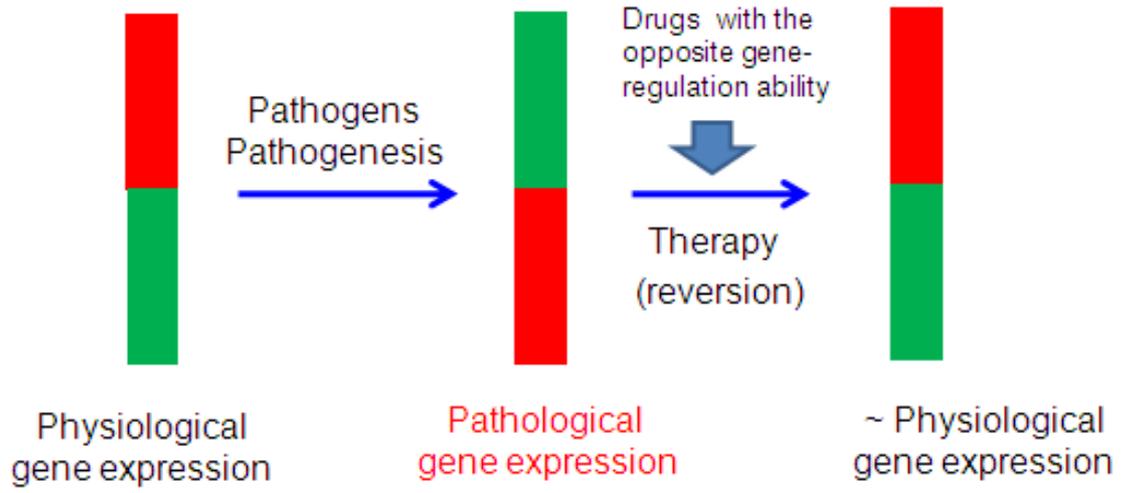
23. Wilson CL, Miller CJ: Simpleaffy: a BioConductor package for Affymetrix Quality Control and data analysis. *Bioinformatics* 2005; 21: 3683-3685.
24. Lee YS, Chen CH, Tsai CN et al: Microarray labeling extension values: laboratory signatures for Affymetrix GeneChips. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: e61.

柒、圖、表

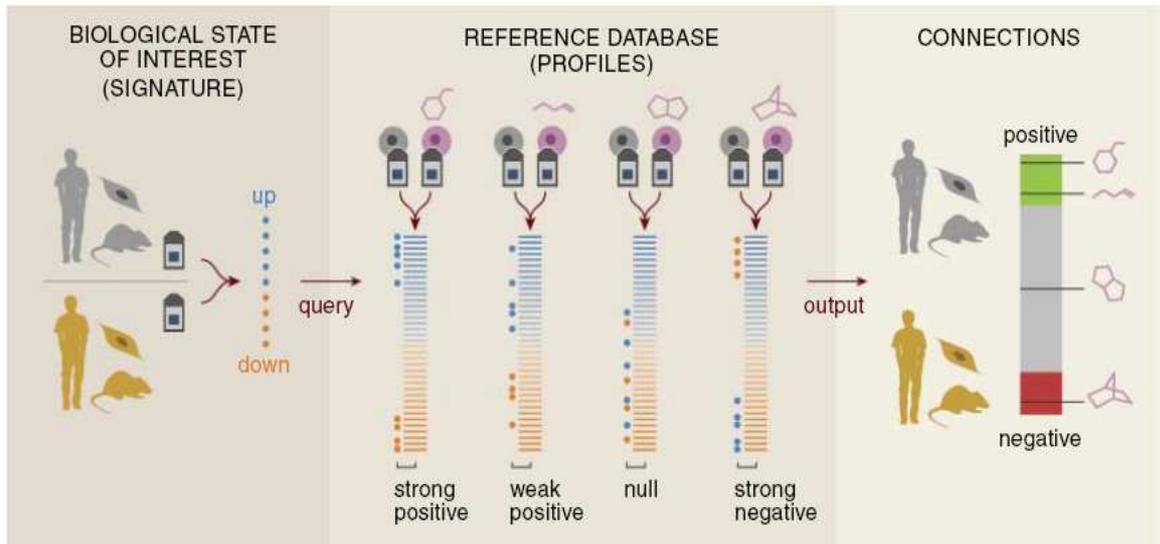


圖一、全面性的功能性試驗

現今已有多種新穎技術可由不同面向切入，最後在基因圖譜表現的層次上獲得相對應的資訊。(本圖摘自 *Nature Rev Cancer* 2007 7:54)

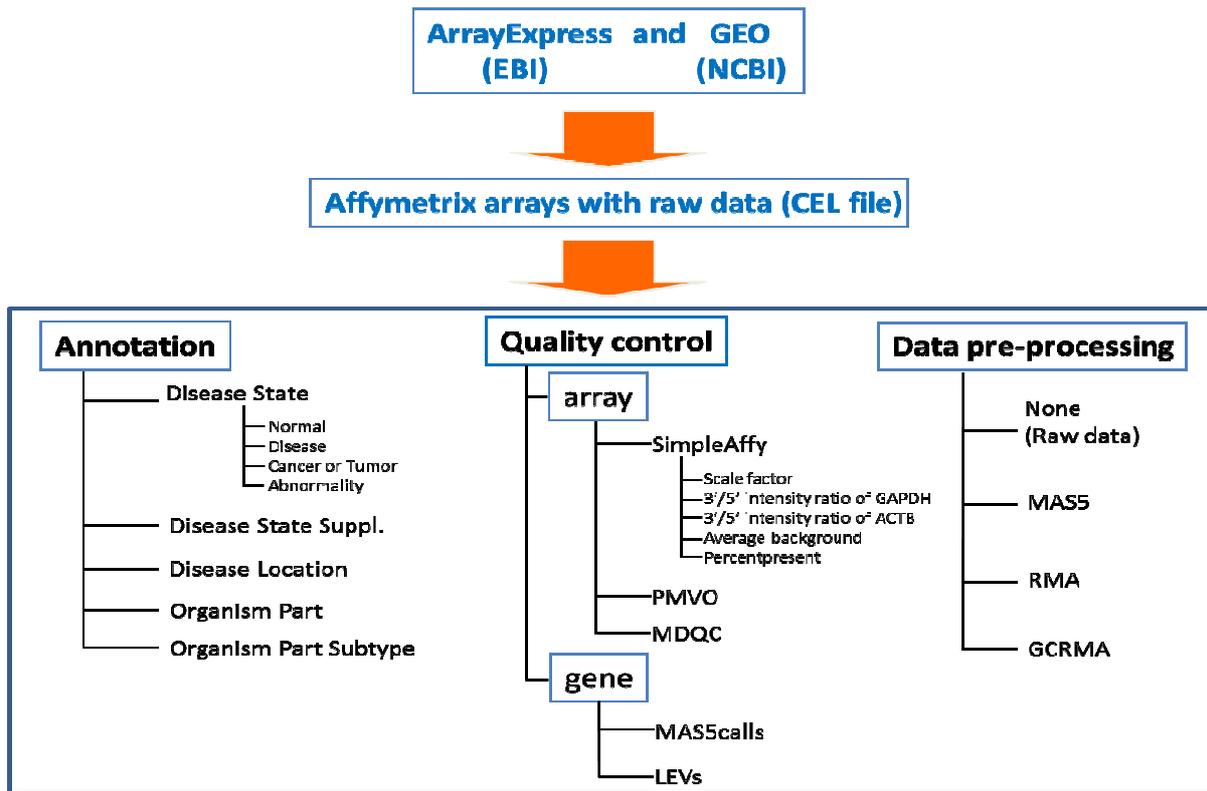


圖二、治療方法與以基因指紋為基礎之藥物篩選的關聯示意

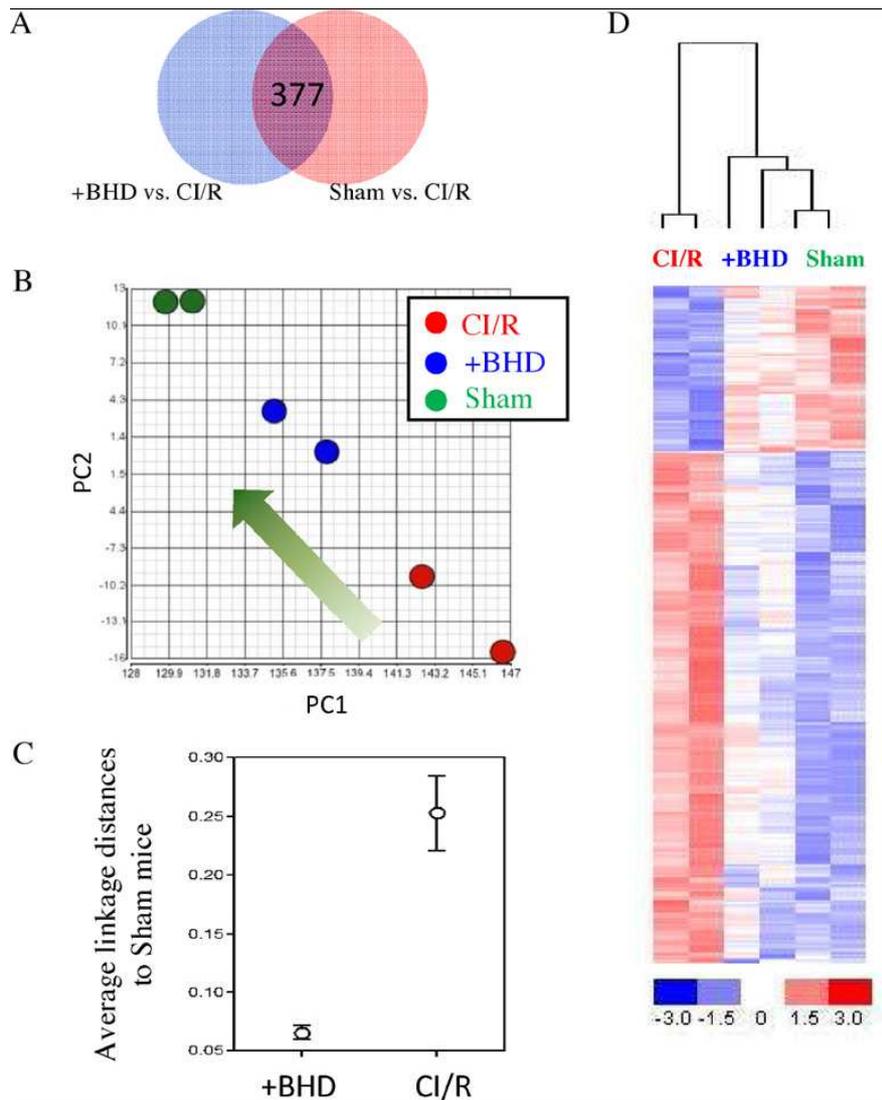


圖三、關聯性圖譜之內容

首先以各種細胞的基因表現圖譜資料建立參考資料庫，而後針對有興趣的細胞狀態不論是受各種刺激或是不同病理或生理狀態的進行基因表圖譜的表徵鑑定(左圖)。接下來利用模式匹配演算法比較參考資料庫與有興趣的細胞基因圖譜之間的關聯性(中圖)。結果經由關聯性係數評分等級排列，等級較高或較低的就是功能性上有正相關或負相關的基因(本圖摘自 Nature Rev Cancer 2007 7:54)。

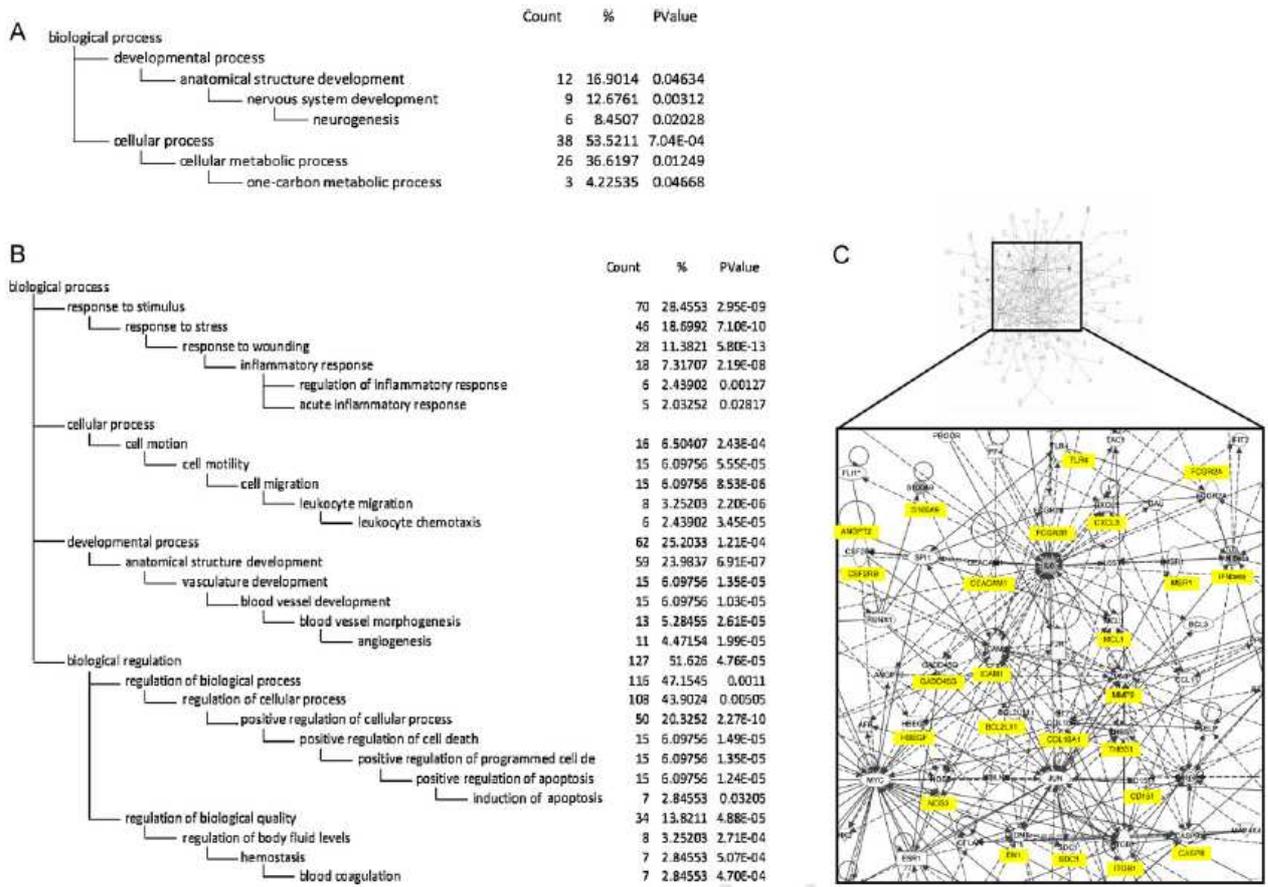


圖四、基因晶片資料庫之數據處理流程



圖五、中風小鼠與經補陽還五湯治療後之中風小鼠的轉錄體分析

- (A)由文氏圖結果顯示有 377 組探針組在中風小鼠中會受到影響但是經由補陽還五湯的治療後會恢復常態。
- (B)利用前述 377 組探針組進行 PCA 分析的結果。
- (C)將上述 377 組探針組進行平均連結法分析，結果顯示中風小鼠與治療後的小鼠之間的對應關係。
- (D)熱圖分析顯示出 377 組探針組中分別被正調控或負調控的探針分布。



圖六、以功能性模組價構評估補陽還五湯調控的神經保護效果

根據基因本體資料庫對經補陽還五湯治療之小鼠的分析結果排出受影響的生物功能性模組，並分以正調控：

(A)或負調控。

(B)分別表列出具顯著意義的基因。

(C)以受到補陽還五湯負調控的基因為基礎形成的功能性基因網絡。

Query Interface

Part I

Platform
 Human U133 A
 Human U133 plus 2.0

Sample Type
 Individual Sample
 Pooled Sample

Quality Control
 None
 100%
 50%
 0%

Part II

Sample Annotation
 All of samples are associated with the default characteristics: "Human H1A", "Human H1A plus 2.0", "Human U133A", "Human U133 plus 2.0", "Human U133 plus 2.0", "Human U133 plus 2.0". This list will also be short searched by these the above terms. Please click "Add Selected Columns" to filter more than one column for selection.

Sample Type
 Individual Sample
 Pooled Sample

Platform
 Human U133 A
 Human U133 plus 2.0

Sample Annotation
 Human H1A
 Human H1A plus 2.0
 Human U133A
 Human U133 plus 2.0
 Human U133 plus 2.0
 Human U133 plus 2.0

Experiment/ Sample Information

Condition: Platform: Human U133 A, Sample Type: Individual Sample, Quality Control: None, Sample Annotation: Human H1A, Human U133A, Human U133 plus 2.0

Experiment ID	AF Serial Name	QEO Name	Investigation Title	Publication Title	Public Release Date	PubMed ID
47	1_000001_0100	00000100	Gene expression of breast cancer tissue	Gene expression profiling genome-wide	20060422	15820000
48	1_000001_0100	00000100	ADPRT1, TOR1A, and related	Identification of microarray signatures	20070318	16880000
49	1_000001_0100	00000100	Subpopulations of microarray data	Genes that respond to drug treatment	20060422	15820000
100	1_000001_0100	00000100	Gene expression signatures for pH in	Gene expression signatures for pH in	20060422	15820000

Sample Information / QC

Sample ID	Experiment ID	Name	Platform ID	Sample Type	Condition	Category	Digestion Method	Library	Library Type	Library Size	Library Status	Library Date	Library Location	Library Accession	Library Description	Library Contact	Library URL
101	47	1_000001_0100	Human U133A	Individual	Human	Human	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
102	48	1_000001_0100	Human U133A	Individual	Human	Human	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
103	49	1_000001_0100	Human U133A	Individual	Human	Human	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
104	100	1_000001_0100	Human U133A	Individual	Human	Human	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None

Records: 100 / Page: 1 / 100

additional selection box

Data Format and Submission

Data Format
 Raw Data
 Data
 QC Data

Email Address

圖七、基因晶片資料庫之網頁快照

表一、中風小鼠受補陽還五湯正调控的前 50 個基因清單

The top 50 up-regulated genes (≥ 2 folds changes) in BHD-treated mice with stroke.

Probe Set ID	UniGene ID	Gene title	Gene symbol	Location
1458053.at	Mm.212066	abl-interactor 2	Abi2	chr1 C2
1455270.at	Mm.89854	A disintegrin and metallopeptidase domain 11	Adam11	chr11 E1 11 60.0 cM
1456901.at	Mm.214132	A disintegrin-like and metallopeptidase with THBS type 1 motif, 20	Adamts20	chr15 E3 15 44.4 cM
1419730.at	Mm.210899	S-Adenosylhomocysteine hydrolase-like 2	Ahcyl2	chr6 A3.3
1441055.at	Mm.331630	A kinase (PRKA) anchor protein 2	Akap2	chr4 B3
1442707.at	Mm.131530	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II alpha	Camk2a	chr18 E1 18 33.0 cM
1418094.s.at	Mm.1641	Carbonic anhydrase 4	Car4	chr11 C
1442667.at	Mm.46063	Cell division cycle 40 homolog (yeast)	Cdc40	chr10 B1
1430302.at	Mm.425666	Cannabinoid receptor interacting protein 1	Cnrip1	chr11 A3.1
1435435.at	Mm.224189	Cortactin binding protein 2	Cttnbp2	chr6 A2
1417318.at	Mm.248788	Deleted in bladder cancer 1	(human) Dbc1	chr4 C2
1418140.at	Mm.12871	Doublecortin	Dcx	chrX F2
1439332.at	Mm.250841	DNA-damage-inducible transcript 4-like	Ddit4l	chr3 G3
1431114.at	Mm.341423	Dedicator of cytokinesis 4	Dock4	chr12 B1 12 21.0 cM
1429779.at	Mm.86705	Eukaryotic translation initiation factor 2C, 4	Eif2c4	chr4 D2.2
1427484.at	Mm.390484	Echinoderm microtubule associated protein like 5	Eml5	chr12 E
1418259.a.at	Mm.1131	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 2	Entpd2	chr2 A3
1425796.a.at	Mm.6904	Fibroblast growth factor receptor 3	Fgfr3	chr5 B 5 20.0 cM
1416658.at	Mm.427436	Frizzled-related protein	Frzb	chr2 C3 2 49.75 cM
1457702.at	Mm.153539	G-protein coupled receptor 12	Gpr12	chr5 G3
1453098.at	Mm.220224	Glutamate receptor, ionotropic, AMPA2 (alpha 2)	Gria2	chr3 E3 3 33.6 cM
1423068.at	Mm.293023	Intraflagellar transport 172 homolog (Chlamydomonas) Ift172 chr5 B1		
1424037.at	Mm.65337	Inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase A	Itpka	chr2 E5
1436066.at	Mm.441119	Kalirin, RhoGEF kinase	Kalrn	chr16 B3
1436767.at	Mm.276133	LUC7-like 2 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Luc7l2	chr6 B1
1427042.at	Mm.473787	mal, T-cell differentiation protein 2	Mal2	chr15 D1
1439540.at	Mm.374865	Membrane-associated ring finger (C3HC4) 2	Mar2	chr17 B1
1445928.at	Mm.272185	Membrane-associated ring finger (C3HC4) 6	Mar6	chr15 B2
1426758.s.at	Mm.289645	Maternally expressed 3	Meg3	chr12 F1 12 54.0 cM
1452464.a.at	Mm.152796	Methionine aminopeptidase-like 1	Metap11	chr2 C2
1455325.at	Mm.44854	Myocardial infarction associated transcript (non-protein coding)	Miat	chr5 F
1423560.at	Mm.3959	NEL-like 2 (chicken)	Nell2	chr15
1438245.at	Mm.4025.5	Nuclear factor I/B	Nfib	chr4 C4-C6
1455663.at	Mm.77425	Olfactomedin-like 1	Olfml1	chr7 E3
1427620.at	Mm.329076	p53-associated parkin-like cytoplasmic protein	Parc	chr17 C
1425781.a.at	Mm.330607	Phospholipase C, beta 1	Plcb1	chr2 F3 2 76.7 cM
1427379.at	Mm.23085	Patatin-like phospholipase domain containing 6	Pnpla6	chr8 A1.1 8 1.1 cM
1419716.a.at	Mm.245261	POU domain, class 2, transcription factor 1	Pou2f1 (Oct1)	chr1 H2.3 1 87.2 cM
1460336.at	Mm.259072	Peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1	α Ppargc1a	chr5 C1
1428578.s.at	Mm.295105	Protein tyrosine phosphatase, f polypeptide interacting protein α 4	Ppfia4	chr1 E4
1420841.at	Mm.29855	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, F	Ptpnf	chr4 C6-D1
1455799.at	Mm.234641	RAR-related orphan receptor beta	Rorb	chr19 B
1421368.at	Mm.218747	Scratch homolog 1, zinc finger protein (<i>Drosophila</i>)	Scrt1	chr15 E1
1428778.at	Mm.320785 Sfi1 homolog, spindle assembly associated (yeast)	Sfi1	chr11 A1	
1435079.at	Mm.100117	Splicing factor, arginine/serine-rich 18	Sfrs18	chr4 A3
1434966.at	Mm.288714	Splicing factor, arginine/serine-rich 8	Sfrs8	chr5 G1.3
1426550.at	Mm.242144	SID1 transmembrane family, member 1	Sid1t	chr16 B4
1426082.a.at	Mm.38384	Solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 4	Slc16a4	chr3 F2.3
1455225.at	Mm.331626	Synaptic nuclear envelope 1	Syne1	chr10 A1
1430177.at	Mm.397314	Ubiquitin-conjugating enzyme E2B, RAD6 homology (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Ube2b	chr11 B1.3

表二、中風小鼠受補陽還五湯負调控的前 50 個基因清單

The top 50 down-regulated genes (≥ 2 folds changes) in BHD-treated mice with stroke.

Probe Set ID	UniGene ID	Gene title	Gene symbol	Location
1416871.at	Mm.15969	A disintegrin and metallopeptidase domain 8	Adam8	chr7 F3-F5
1448318.at	Mm.381	Adipose differentiation related protein	Adfp	chr4 C4 4 38.9 cM
1451675.a.at	Mm.302724	Aminolevulinic acid synthase 2, erythroid	Alas2	chrX F3 X 63.0 cM
1448831.at	Mm.439874	Angiopoietin 2	Angpt2	chr8 A1.3 8 9.0 cM
1460330.at	Mm.7214	Annexin A3	Anxa3	chr5 E3 5 54.0 cM
1418133.at	Mm.439658	B-cell leukemia/lymphoma 3	Bcl3	chr7 A3 7 6.5 cM
1439902.at	Mm.247623	Complement component 5a receptor 1 C5ar1	chr7 A2 7 3.9 cM	
1417789.at	Mm.4686	Small chemokine (C-C motif) ligand 11	Ccl11	chr11 C 11 47.0 cM
1417266.at	Mm.137	Chemokine (C-C motif) ligand 6	Ccl6	chr11 C 11 47.51 cM
1425658.at	Mm.32955	CD109 antigen	Cd109	chr9 E1
1456046.at	Mm.681	CD93 antigen	Cd93	chr2 G3 2 84.0 cM
1419764.at	Mm.387173	Chitinase 3-like 3 Chi3l3	chr3 F2.2 3 50.5 cM	
1420804.s.at	Mm.441101	C-type lectin domain family 4, member d	Clec4d	chr6 F3 6 56.5 cM
1421366.at	Mm.103765	C-type lectin domain family 5, member a	Clec5a	chr6 B2
1421326.at	Mm.235324	Colony stimulating factor 2 receptor, beta (granulocyte-macrophage)	Csf2rb	chr15 E1 15 43.3 cM
1449984.at	Mm.4979	Chemokine (C-X-C motif) ligand 2	Cxcl2	chr5 E1 5 51.0 cM
1438148.at	Mm.244289	Chemokine (C-X-C motif) ligand 3	Cxcl3	chr5 E1
1416612.at	Mm.214016	Cytochrome P450, family 1, subfamily b, polypeptide 1	Cyp1b1	chr17 E3
1416039.x.at	Mm.1231	Cysteine rich protein 61	Cyr61	chr3 H2 3 72.9 cM
1451924.a.at	Mm.14543	Endothelin 1	Edn1	chr13 A4 13 26.0 cM
1417104.at	Mm.20829	Epithelial membrane protein 3	Emp3	chr7 B4 7 24.5 cM
1435477.s.at	Mm.425062	Fc receptor, IgG, low affinity IIb	Fcgr2b	chr1 H3 1 92.3 cM
1433963.a.at	Mm.157591	Fermitin family homolog 3 (Drosophila)	Fermt3	chr19 A
1422953.at	Mm.378918	Formyl peptide receptor 2	Fpr2	chr17 A3.2
1453851.a.at	Mm.281298	Growth arrest and DNA-damage-inducible 45 gamma	Gadd45g	chr13 A5-B
1418483.a.at	Mm.281124	Glycoprotein galactosyltransferase alpha 1, 3	Ggta1	chr2 B 2 25.0 cM
1428492.at	Mm.22213	GLI pathogenesis-related 2	Glipr2	chr4 B1
1424067.at	Mm.435508	Intercellular adhesion molecule 1	Icam1	chr9 A3 9 7.0 cM
1421551.s.at	Mm.218770	Interferon activated gene 202B	Ifi202b	chr1 H3
1418293.at	Mm.2036	Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 2	Ifit2	chr19 C1
1449982.at	Mm.35814	Interleukin 11	Il11	chr7 A1 7 2.0 cM
1451775.s.at	Mm.24208	Interleukin 13 receptor, alpha 1	Il13ra1	chrX A3.3 X 12.5 cM
1450297.at	Mm.1019	Interleukin 6	Il6	chr5 B1 5 17.0 cM
1421811.at	Mm.4159	Thrombospondin 1	Thbs1	chr2 F1-F3 2 65.0 cM
1448265.x.at	Mm.33240	Myelin protein zero-like 2	Mpzl2	chr9 A5.2 9 26.0 cM
1419598.at	Mm.290390	Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6D	Ms4a6d	chr19 A
1425434.a.at	Mm.239291	Macrophage scavenger receptor 1	Msr1	chr8 A4 8 20.0 cM
1428547.at	Mm.244235	5' nucleotidase, ecto	Nt5e	chr9 E3.2
1420664.s.at	Mm.3243	Protein C receptor, endothelial	Procr	chr2 H1-3
1418666.at	Mm.276776	Pentraxin related gene	Ptx3	chr3 E1 3 33.8 cM
1436359.at	Mm.57199	Ret proto-oncogene	Ret	chr6 E3-F1 6 53.2 cM
1439780.at	Mm.218533	Ribosomal protein L7-like 1	Rpl7l1	chr17 C
1421375.a.at	Mm.100144	S100 calcium binding protein A6 (calcylin)	S100a6	chr3 F1-F2 3 43.6 cM
1448756.at	Mm.2128	S100 calcium binding protein A9 (calgranulin B)	S100a9	chr3 F1-F2 3 43.6 cM
1437279.x.at	Mm.2580	Syndecan 1	Sdc1	chr12 A1.1 12 1.0 cM
1422286.a.at	Mm.101034	TG interacting factor 1	Tgif1	chr17 E1.3
1451416.a.at	Mm.41964	Transglutaminase 1, K polypeptide Tgm1 chr14 C1		
1448529.at	Mm.24096	Thrombomodulin	Thbd	chr2 G3 2 84.0 cM
1460302.at	Mm.4159	Thrombospondin 1	Thbs1	chr2 F1-F3 2 65.0 cM
1433883.at	Mm.295124	Tropomyosin 4	Tpm4	chr8 B3.3

表三、資料庫中臨床檢體之總覽

Organism Part	Term Source	Count
Adipose	BRENDA tissue / enzyme source	64
Adrenal Gland	NCI Thesaurus	27
Bladder	NCI Thesaurus	109
Blood	NCI Thesaurus	2042
Bone Marrow	NCI Thesaurus	747
Brain	NCI Thesaurus	906
Breast	NCI Thesaurus	1964
Cervix Uteri	NCI Thesaurus	183
Colon	NCI Thesaurus	518
Esophagus	NCI Thesaurus	29
Hair	NCI Thesaurus	16
Heart	NCI Thesaurus	118
Kidney	NCI Thesaurus	359
Liver	NCI Thesaurus	158
Lung	NCI Thesaurus	567
Lymph Node	NCI Thesaurus	292
Muscle	NCI Thesaurus	424
Nose	NCI Thesaurus	20
Oral Cavity	NCI Thesaurus	90
Ovary	NCI Thesaurus	338
Pancreas	NCI Thesaurus	42
Placenta	NCI Thesaurus	61
Prostate	NCI Thesaurus	182
Rectum	NCI Thesaurus	36
Skin	NCI Thesaurus	154
Sperm	NCI Thesaurus	21
Stomach	NCI Thesaurus	13
Testis	NCI Thesaurus	182
Thymus Gland	NCI Thesaurus	13
Thyroid Gland	NCI Thesaurus	47
Tonsil	NCI Thesaurus	30
Umbilical Cord Blood	NCI Thesaurus	89
Umbilical Cord Tissue	SNOMED-CT	54
Uterus	NCI Thesaurus	135
Vulva	NCI Thesaurus	19

總和：10049 基因晶片

表四、所收集公開資料庫中之中草藥基因晶片實驗

ID	species	platform	num. of array	cell line/tissue	treatment
GSE7848	Homo sapiens	GPL571	16	MDA-MB-453 breast cancer cell line	actein
GSE20928	Homo sapiens	GPL570	6	human leukemia K562 cell	Calactin
GSE24743	Homo sapiens	GPL570	4	human lymphoma U937 cell	shikonin
GSE3000	Homo sapiens	GPL2575	16	KG-1	Cordyceps sinensis
GSE21417	Rattus norvegicus	GPL1355	8	liver tissue	persimmon peel
GSE24832	Homo sapiens	GPL6244	4	human gingival fibroblast human lung	The leaf of Eriobotrya japonica (Ej)
GSE9315	Homo sapiens	GPL5968	6	adenocarcinoma cell line, CL1-5	tanshinone I
GSE3692	Homo sapiens	GPL2570	9	KG-1	Antrodia Camphorata Extracts
GSE19128	Homo sapiens	GPL570	11	PBMC	different herb extract
GSE8228	Homo sapiens	GPL96	4	human leukemia U937 cell	Paeoniflorin
GSE6800	Homo sapiens	GPL570	8	MCF-7	Cimicifuga racemosa (black cohosh)
GSE12217	Rattus norvegicus	GPL341	10	mammary gland	soy protein isolate (SPI)
GSE24832	Homo sapiens	GPL6244	4	human gingival fibroblast	the leaves of Eriobotrya japonica
GSE23748	Rattus norvegicus	GPL1355	30		tofu and soy protein diet
GSE32085	Mus musculus	GPL81	24	Colon	Juzehtaihoto

總和：160 基因晶片