

傳統與現代的結合：

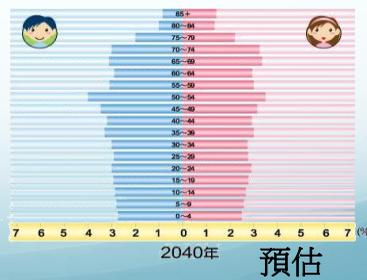
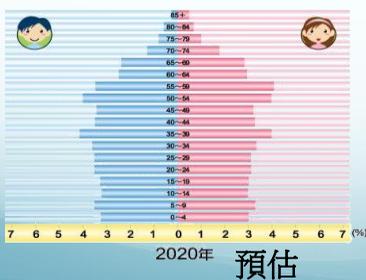
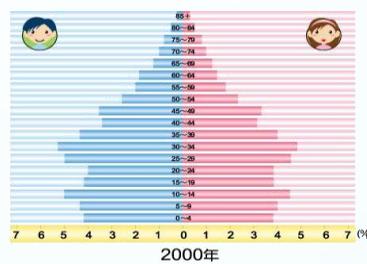
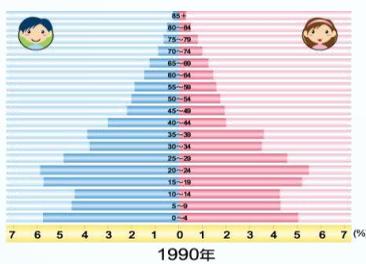
中醫藥與幹細胞生物學結合為
中風治療帶來曙光

沈劍剛教授

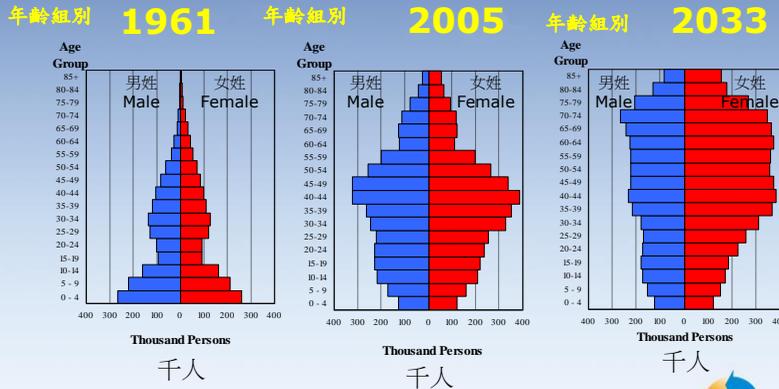
香港大學李嘉誠醫學院中醫藥學院教授及助理院長(科研)

1990至2040年的中國人口統計

中國屬於「高齡化社會」 **Caution: Aging China !!!**

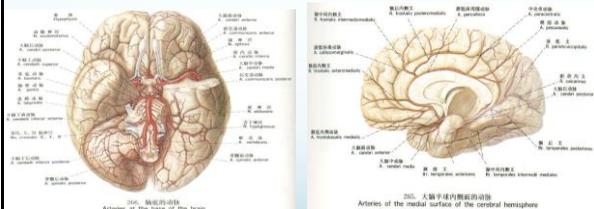


香港人口金字塔 Hong Kong Population Pyramid



一、中風與老年病

中風是增齡性疾病，為人類致死病因的第2位。中風在中國位列第一位殺手，致死率和致殘率高，中國每年的發病患者達200萬，每年約有120萬人死於腦中風。大多數(60-80%)患者遺留不同程度的後遺症， $\frac{1}{4}$ - $\frac{3}{4}$ 的腦卒中患者可能在2-5年內復發。



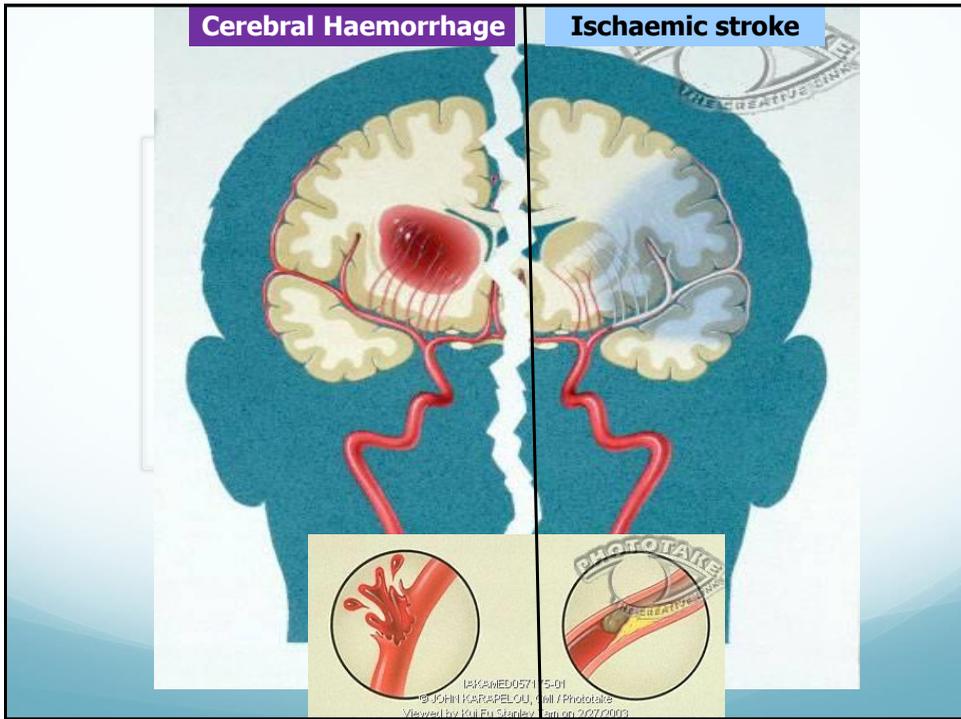
一組全球數字：

- 每2秒鐘就有1人發生腦卒中。
- 每6秒鐘就有1人因為腦卒中而致殘。
- 每6秒鐘就有1人因為腦卒中而死亡。
- 每6人中就有1人一生中會罹患腦卒中。

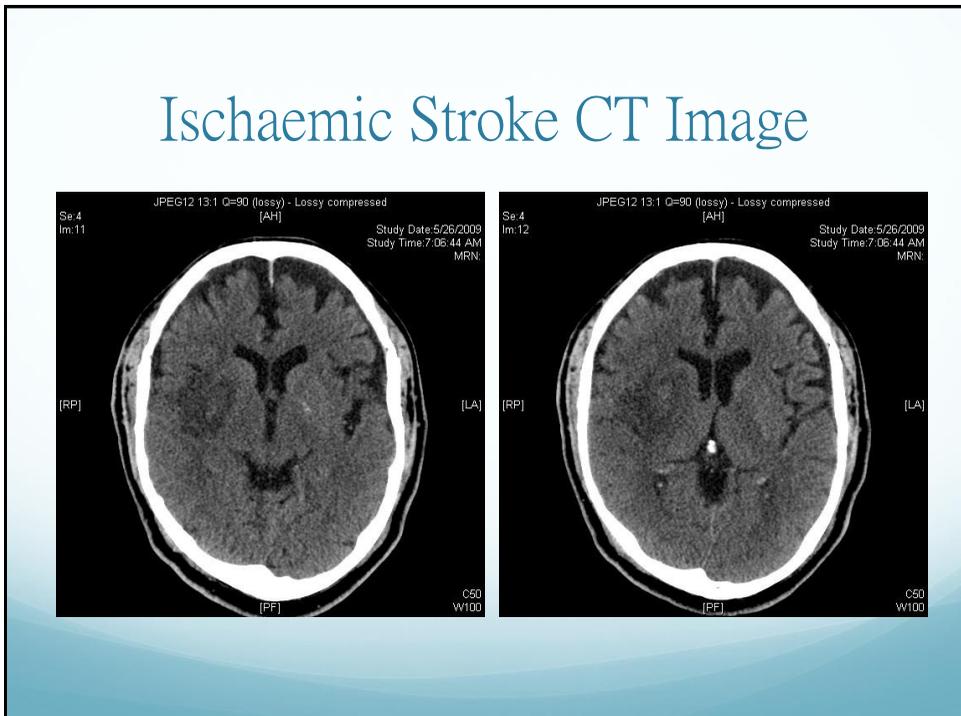


1. 中風診斷現況

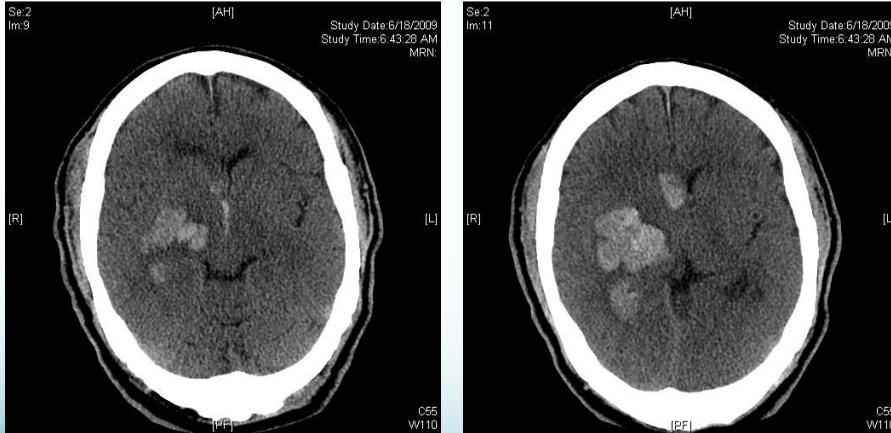
醫學成像技術用於中風診斷和監測療效



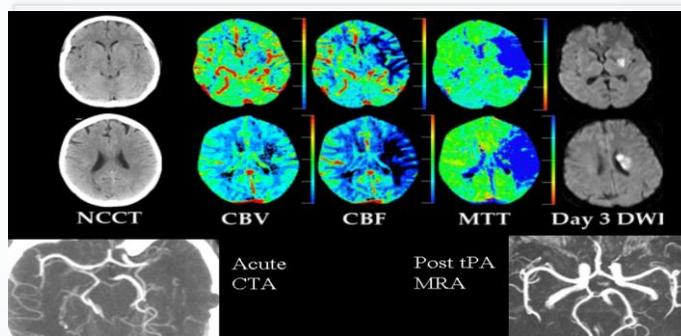
Ischaemic Stroke CT Image



Haemorrhage Stroke CT Image

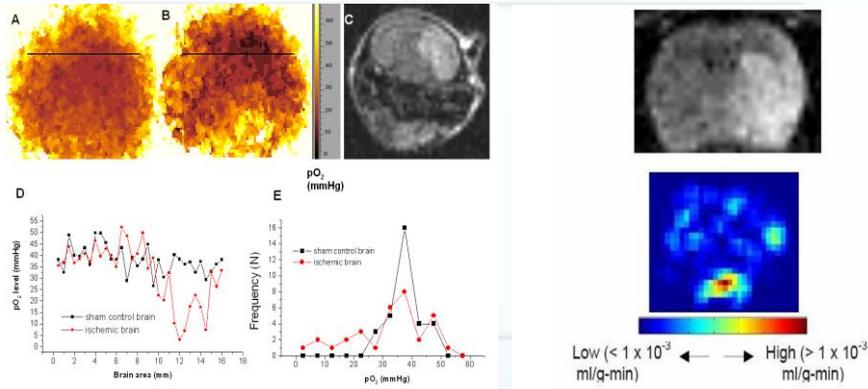


多種電腦成像技術為診斷與治療中風提供有力的工具



Patient imaged with multimodal CT at 3.5 hours after stroke. M1 occlusion on CT angiography (CTA) (lower left). Small area of reduced cerebral blood volume (CBV) in lentiform nucleus and deep white matter but surrounded by much larger areas of reduced cerebral blood flow (CBF)/prolonged mean transit time (MTT) consistent with ischemic penumbra. Minimal change seen on non-contrast CT (NCCT). Patient treated with intravenous (IV) thrombolysis and had major early neurologic improvement, complete recanalisation on follow-up magnetic resonance angiography (MRA) (lower right), and only a small amount of infarction on follow-up diffusion-weighted imaging (DWI) (corresponding to pre-treatment areas of reduced CBV).

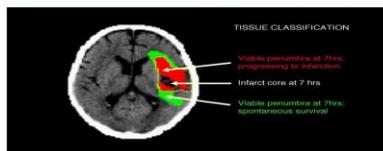
發展腦氧分佈地形圖技術檢測腦氧供應



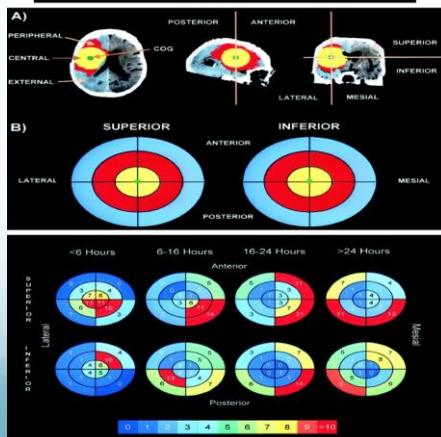
EPR pO₂ imaging and diffusion weight MR image show the site of the ischemic lesion (hyper intense region). The permeability coefficient color map demonstrates regions of high and low permeability with regions of high permeability corresponding to BBB breakdown

Shen JG, et al. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2009; 29(10):1695-703.

時間就是腦細胞！ PET/CT



Top: 18F-fluoromisonidazole (FMISO) PET scan performed 7 hours after stroke onset. The PET scan is co-registered to the delayed CT scan outlining final infarct at 7 days. At 7 hours after stroke onset, a significant volume of penumbral tissue that is potentially viable is observed surrounding the infarct core.

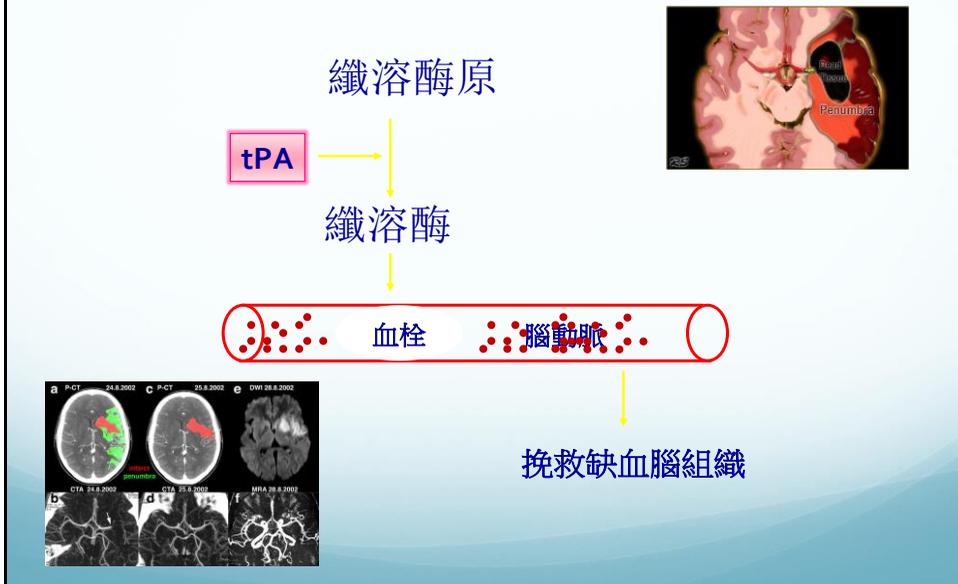


Middle: Construction of the penumbrogram. Central (yellow), peripheral (red), and external (blue) zones of the infarcted volume are shown. In the penumbrogram, superior and inferior halves of the infarcted volume are defined by the horizontal plane. The inner, middle, and outer circles represent the central, peripheral, and external zones.

Lowest: Temporal evolution of the penumbrogram. Composite penumbrogram for each time epoch (<math>< 6</math>, 6-16, 16-24, and 24-48 hours) after stroke onset are shown. The number in each region refers to the percentage of hypoxic volume. Higher volume of hypoxic tissue is observed in the central region within 6 hours.

Ebinger M, et al. *J Clin Neurosci*. 2009 Feb;16(2):178-87

1996年美國FDA批准tPA治療急性缺血性腦卒中



tPA溶栓治療腦卒中：兩難選擇

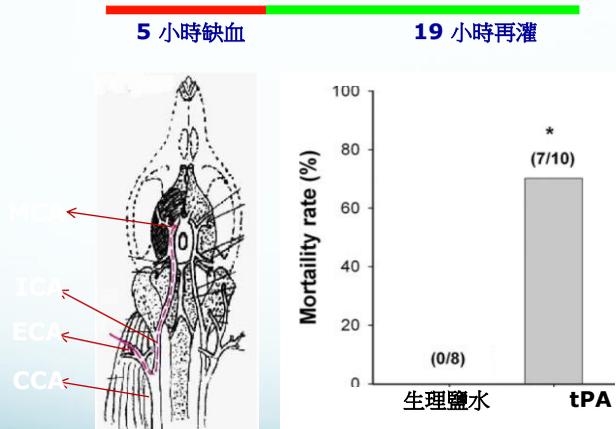


▪ 經tPA及時治療的腦卒中病人，致殘率降低**30%**。

- 嚴重腦出血風險增加**10倍**
- 嚴重腦出血的死亡率高達**61%**
- 迄今無法準確預測腦出血風險

延遲tPA 再灌顯著增加卒中死亡率

生理鹽水或 tPA



(Liu W et al, Stroke. 2009)

延遲tPA 再灌導致腦出血

生理鹽水或 tPA

5 小時缺血 19 小時再灌

生理鹽水治療組



tPA治療組



(Liu W et al, Stroke. 2009)

神經保護藥：可望而不可及。

- >1000個化合物在動物卒中模型上被證明治療卒中有效
- 114個化合物進入了臨床實驗
- 0個化合物有效

Neuroprotection: the end of an era?
(*Lancet* 2006)

手術治療對出血性中風的療效也不肯定

Early surgery versus initial conservative treatment

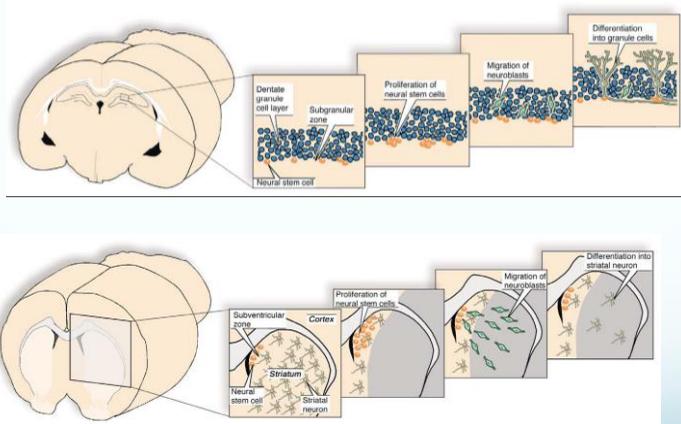
(STICH Trial)

- 1033 primary ICH patients
 - ICH onset within 72 hrs
 - Favourable outcome at months
 - **Early surgery: 26%**
 - **Initial conservative: 24%**
- (p=0.414)



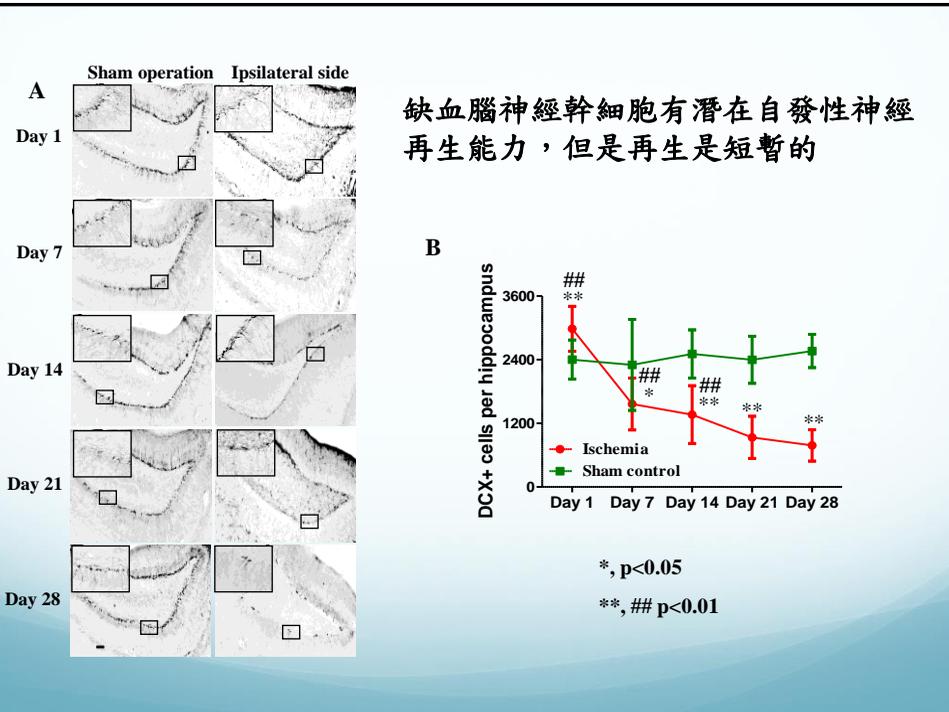
A large RCT 1033 patients from 83 centers in 27 countries failed to show a benefit of surgery over conservative treatment in acute hemorrhagic stroke. (Mendelow AD, et al. *Lancet* 2005;365(9457):387-397)

幹細胞生物學的發展為中風後腦修復帶來希望



Neurogenesis mainly occurs in the two areas of adult brains.

(Zaal K and Olle L, *Current Opinion in Neurobiology*, 2003)



目前促神經再生療法存在的問題

- 神經幹細胞移植是今後發展方向，但是短期無法用於臨床
- 藥物治療以促進內生的神經幹細胞有無可能？
- 如何能找到一種“神藥”治療中風引起的多系統信號網絡紊亂達到神經再生？

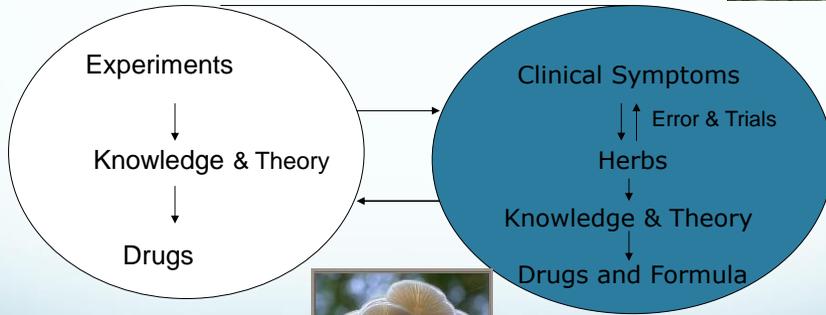
中醫藥與幹細胞生物學結合是再生醫學新方向

中醫與西醫

Western Medicine

TCM

Bridge ??



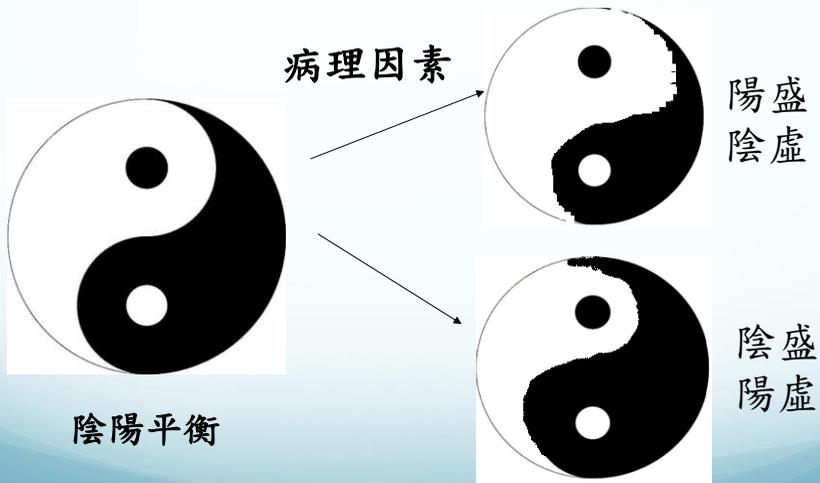
Bench to Bedside



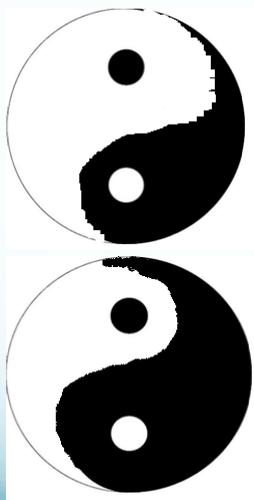
“Direct clinical trials”

“神農嘗百草，日遇七十毒”

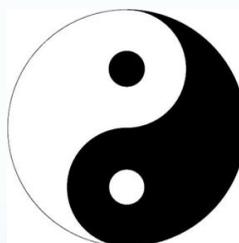
陰陽平衡是健康之本!



治療目的：平衡陰陽



整合療法：
草藥、針灸、
太極、氣功



平衡陰陽

草藥也分陰陽之性：四氣五味



金銀花



菊花



薄荷

涼藥、瀉藥



細辛



荊芥



黃芪

熱藥、補藥

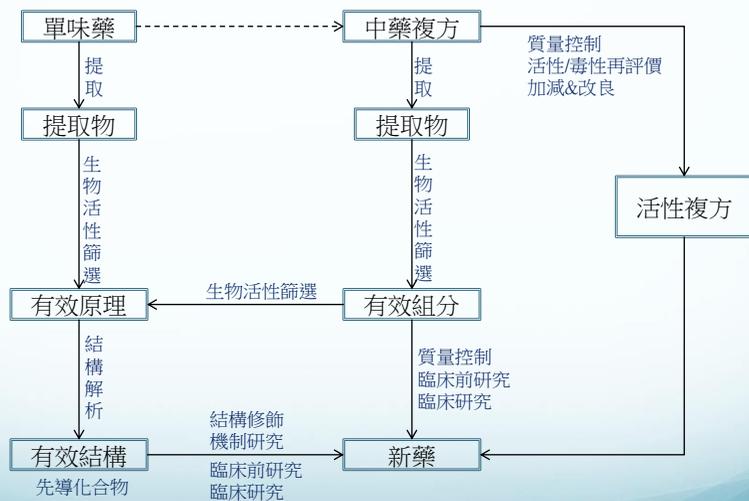
中醫對中風病機的認識

- 中醫學對「中風」的臨床表現早有記載，《黃帝內經》中記載：「血之與氣，並走於上，則為大厥，厥則暴死，氣復返則生，不返則死」，此為典型的出血性中風的臨床表現。
- 基本病機：陰陽失調，氣血逆亂。
- 病理性質：本虛標實。
肝腎陰虛，氣血衰少為致病之本，
風、火、痰、氣、瘀為發病之標，
兩者可互為因果。
- 輕者中經絡，重者中臟腑。
- 恢復期因氣血失調，血脈不暢而後遺經絡病證。
- 因肝腎陰虛，氣血虧損未復，風、火、痰、瘀之邪留滯經絡，氣血運行不暢、半身不遂、口歪或不語等後遺症。

中風病證的中醫辨證

- 如病人表現為手足麻木、肢體輕度運動失調，或口眼歪斜、語言不利等證，多屬於「中經絡」，治療上採用祛風活血通絡之中藥；如用大秦芫湯祛風通絡，治療絡脈空虛、風邪入侵所致的中風病證；用鎮肝熄風湯治療肝腎陰虛、風陽上亢的中風病證；用溫膽湯治療痰涎壅盛的中風病證。
- 如病人表現為昏迷不醒，則屬於「中臟腑」的病證，雖然目前對這一類病人多經西醫治療，但也有一些中藥可配合西醫治療，如安宮牛黃丸、參附湯、蘇合香丸等。
- 中風後遺症的治療方面，半身不遂者可用補陽還五湯加減以益氣活血，兼補益肝腎，如加水蛭、桑枝、桑寄生、川斷、地黃、山萸肉、雞血藤等。語言不利者，以解語丹加減。

生物活性指導的草藥新藥研究策略



細胞體外實驗中已經證實對神經再生有效的中藥單體化合物

化合物名	植物來源	對神經再生的影響	細胞模型	可能的機制
丹酚酸B	丹參	細胞增殖↑ 神經小球形成↑	大鼠胚胎神經幹細胞	PI3K/Akt ↑
黃芩苷	黃芩	神經元分化↑ 星形膠質細胞分化↓	大鼠胚胎神經幹細胞	p-stat3↓Hes1↓, NeuroD1↑Mash1↑
薑黃素	薑黃	幹細胞增殖↑	C17.2神經組細胞系	pERK↑p-p38 ↑
川芎嗪	川芎	幹細胞增殖↑ 神經小球形成↑ 神經元分化↑ 星形膠質細胞分化↓	低氧模型下的大鼠胚胎神經幹細胞	pERK↑
Gentisides C-K	龍膽草	神經軸突生長↑	PC12細胞系	
人參皂苷Rg5	人參	神經元分化↑	小鼠胚胎神經幹細胞	[Ca ²⁺]↑
白果內酯和槲皮素	銀杏	幹細胞增殖↑ 神經元分化↑	大鼠海馬神經祖細胞	BDNF↑ pCREB↑
遠志皂苷	遠志	幹細胞增殖↑ 神經小球形成↑ 神經元分化↑ 膠質形成↑	大鼠胚胎神經幹細胞	

Shen J., Chen X. Drug Discovery from Traditional Chinese Medicine for Neurogenesis: Implications for Stroke and Neurodegenerative Diseases. In: James D., Adams, Jr. *Traditional Chinese Medicine - Scientific Basis for its Use*, Royal Society of Chemistry Publishing Group, London, 204-237, 2013.

細胞體外實驗中已經證實對神經再生有效的單味藥提取物

名稱	植物來源	對神經再生的影響	細胞模型	可能的機制
三七皂苷	三七	幹細胞增殖↑ 神經元分化↑	大鼠海馬神經祖細胞	
EGb 761	銀杏	幹細胞增殖↑	胚胎幹細胞	pCREB ↑
遠志根提取物	遠志	神經元分化↑	神經前體細胞(HiB5)	
枸杞多糖	枸杞	幹細胞增殖↑	C17.2 神經組細胞系	
淫羊藿黃酮	淫羊藿	幹細胞增殖↑ 神經小球形成↑ 神經元分化↑	大鼠海馬神經幹細胞	

Shen J., Chen X. Drug Discovery from Traditional Chinese Medicine for Neurogenesis: Implications for Stroke and Neurodegenerative Diseases. In: James D., Adams, Jr. *Traditional Chinese Medicine - Scientific Basis for its Use*, Royal Society of Chemistry Publishing Group, London, 204-237, 2013.

細胞體外實驗中已經證實對神經再生有效的中藥複方

複方方名	植物來源	對神經再生的影響	細胞模型
MLC901	黃芪，丹參，赤芍，川芎，當歸，紅花，桃仁，遠志，石菖蒲	幹細胞增殖↑	人胚胎幹細胞分化的神經祖細胞
補陽還五湯	黃芪，當歸尾，赤芍，川芎，紅花，桃仁，地龍	神經軸突生長↑ 神經元分化↑	大鼠胚胎幹細胞模型

Shen J., Chen X. Drug Discovery from Traditional Chinese Medicine for Neurogenesis: Implications for Stroke and Neurodegenerative Diseases. In: James D., Adams, Jr. *Traditional Chinese Medicine - Scientific Basis for its Use*, Royal Society of Chemistry Publishing Group, London, 204-237, 2013.

動物實驗中已經證實對神經再生有效的中藥單體化合物

化合物名	植物來源	動物模型	對神經再生的影響	對功能恢復的作用
薑黃素	薑黃	小鼠	DG和SVZ區幹細胞增殖↑	
淫羊藿苷	淫羊藿	衰老大鼠	DG區幹細胞增殖和分化↑	學習記憶能力增強
槲皮素	多種藥用植物	大鼠腦缺血模型	SVZ區幹細胞增殖↑	
丹酚酸B	丹參	大鼠腦缺血模型	海馬區幹細胞增殖↑	學習記憶能力增強

Shen J., Chen X. Drug Discovery from Traditional Chinese Medicine for Neurogenesis: Implications for Stroke and Neurodegenerative Diseases. In: James D., Adams, Jr. *Traditional Chinese Medicine - Scientific Basis for its Use*, Royal Society of Chemistry Publishing Group, London, 204-237, 2013.

動物實驗中已經證實對神經再生有效的單味藥提取物

提取物名	植物來源	動物模型	對神經再生的影響	對功能恢復的作用	可能的機制
附子多糖	烏頭	小鼠	DG區幹細胞增殖↑ 新生成成熟神經元↑	運動和學習能力增強	BDNF↑
棗醇提取物	棗	小鼠	DG區幹細胞增殖↑ 新生未成熟神經元↑		
檸檬香草提取物	檸檬香草	小鼠	DG區幹細胞增殖↑ 新生未成熟神經元↑		GABA level↑
桔梗水提物	桔梗	小鼠	DG區幹細胞增殖↑ 新生未成熟神經元↑		
銀杏提取物	銀杏	小鼠	DG區幹細胞增殖↑ 新生未成熟神經元↑		
標準銀杏提取物EGb 761	銀杏	阿爾茨海默氏模型小鼠	DG區幹細胞增殖↑ 新生成成熟神經元↑		Aβ↓ pCREB ↑
遠志根提取物	遠志	大鼠	海馬CA1區幹細胞增殖↑ 神經元分化↑		
蓮藕提取物	睡蓮	大鼠	DG區幹細胞增殖↑ 新生未成熟神經元↑	認知能力增強	
山茱萸環烯醚萜苷	山茱萸	大鼠腦缺血模型	SVZ區幹細胞增殖↑ 新生成成熟神經元↑	運動和學習記憶能力增強	VEGF ↑ Flk-1 ↑

Shen J., Chen X. Drug Discovery from Traditional Chinese Medicine for Neurogenesis: Implications for Stroke and Neurodegenerative Diseases. In: James D., Adams, Jr. *Traditional Chinese Medicine - Scientific Basis for its Use*, Royal Society of Chemistry Publishing Group, London, 204-237, 2013.

動物實驗中已經證實對神經再生有效的中藥複方

複方方名	植物來源	動物模型	對神經再生的影響	對功能恢復的作用	可能的機制
加味溫膽湯	半夏, 竹茹, 枳實, 豬苓, 陳皮, 甘草, 玄參, 人參, 地黃, 酸棗仁, 枸杞, 乾薑	小鼠	海馬區新生神經元↑	學習能力增強	pAkt↑ BDNF↑ pCREB↑
六味地黃湯	地黃, 赤芍, 山茱萸, 澤瀉, 牡丹皮, 茯苓, 五味子	大鼠	DG區幹細胞增殖↑	認知學習能力增強	
複智散	人參, 黃芩, 石菖蒲, 甘草	SAMP-8 小鼠	DG 和 SVZ區幹細胞增殖↑	學習記憶能力增強	
MLC 601	黃芪, 丹參, 赤芍, 川芎, 當歸, 紅花, 桃仁, 遠志, 石菖蒲, 水蛭, 土鼈蟲, 牛黃, 全蝎, 羚羊角	小鼠腦缺血模型	幹細胞增殖↑ 神經元分化↑	運動能力增強	BDNF↑
MLC901	黃芪, 丹參, 赤芍, 川芎, 當歸, 紅花, 桃仁, 遠志, 石菖蒲	大鼠四血管栓塞模型	DG區幹細胞增殖↑ 神經元分化↑	學習記憶能力增強	
補陽還五湯	黃芪, 當歸尾, 赤芍, 川芎, 紅花, 桃仁, 地龍	大鼠腦缺血模型	DG和SVZ區幹細胞增殖↑	神經功能評分好轉	VEGF↑ Flk-1↑

Shen J., Chen X. Drug Discovery from Traditional Chinese Medicine for Neurogenesis: Implications for Stroke and Neurodegenerative Diseases. In: James D., Adams, Jr. *Traditional Chinese Medicine - Scientific Basis for its Use*, Royal Society of Chemistry Publishing Group, London, 204-237, 2013.

補陽還五湯 清代王清任《醫林改錯》

- 組方:

黃芪 120g、當歸 6g、赤芍 4.5g、
川芎 3g、地龍 3g、桃仁 3g、紅花 3g



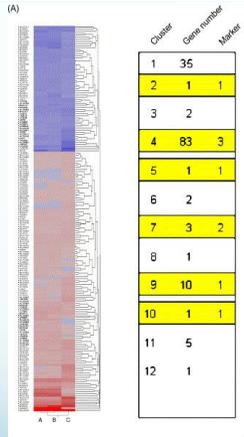
- 功效：補中益氣、活血通經

為益氣活血的代表性名方，其配伍在中醫傳統名方中相當獨特。重用黃芪為君藥，其餘活血通絡的藥物為臣藥或佐使之藥。

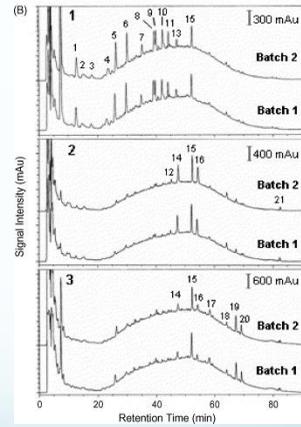
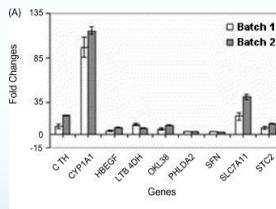
- 適應症：用於治療氣虛血瘀之中風後遺症，出現口眼歪斜、半身不遂、語言不利等症狀。

《醫林改錯》：“此方治半身不遂、口眼歪斜、語言蹇澀、口角流涎、大便乾燥、小便頻數、遺尿不禁。”

基因組學研究顯示該方能調節多種神經生長及神經保護因素 且質量控制可靠



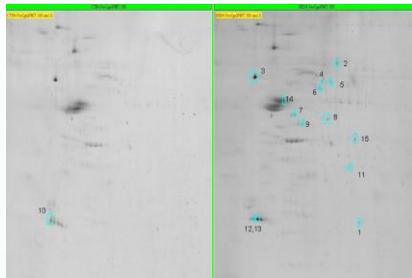
Selection of candidate marker genes and TaqMan qRT-PCR determination of marker genes in different batch



HPLC chromatographic profiles recorded at (1) 295 nm, (2) 235 nm and (3) 205 nm

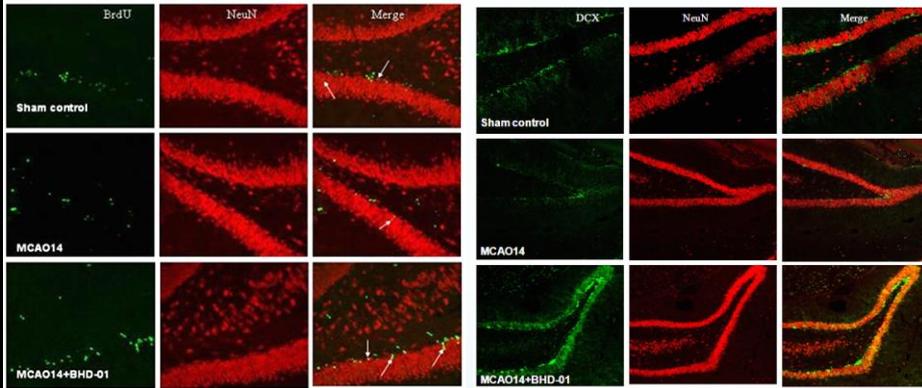
Rong J, Cheung CY, Lau AS, Shen J et al. *J Ethnopharmacol.* 2007 Aug 15;113(1):35-44.

該方能通過調節多信號通路促神經再生



調節神經幹細胞增殖、分化、神經網路形成、
細胞死亡和能量代謝相關基因

全方促神經再生研究（中風動物模型）

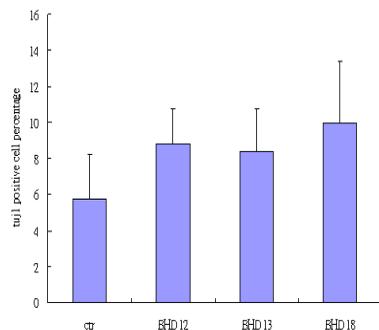
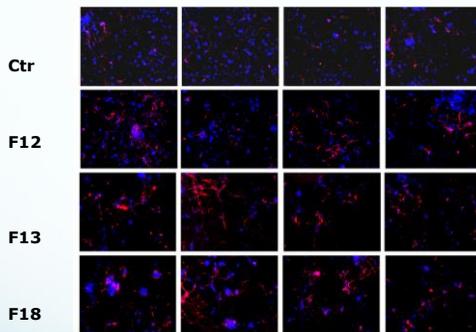


Proliferation (BrdU/NeuN dual)

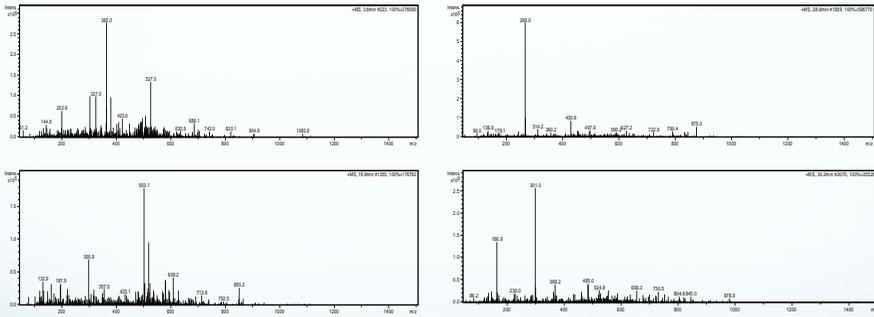
Differentiation (DCX/NeuN dual)

Effects of BHD-01 on improving neurogenesis in hippocampus area in experimental ischemic stroke rat models at day 14

活性組分的研究

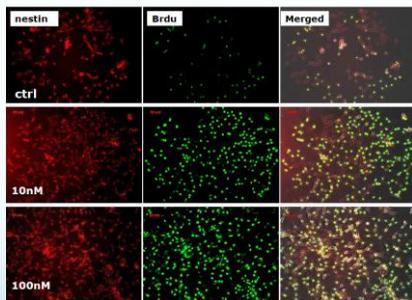


鑒定活性成份及單體化合物的研究策略

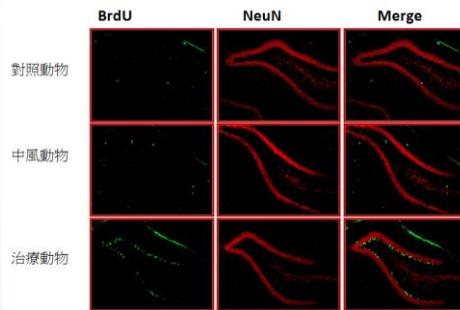


有效成份促幹細胞生長有效

細胞學證據



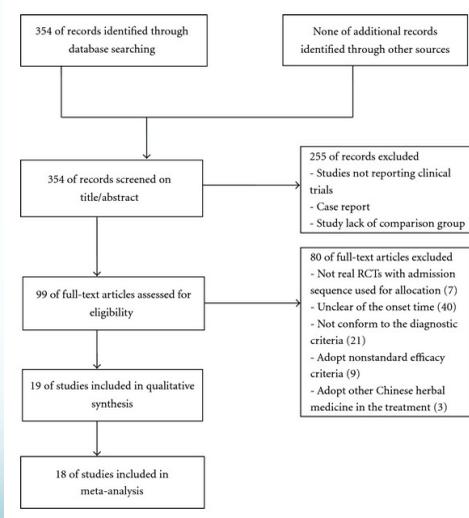
動物實驗證據



我們的實驗研究結論

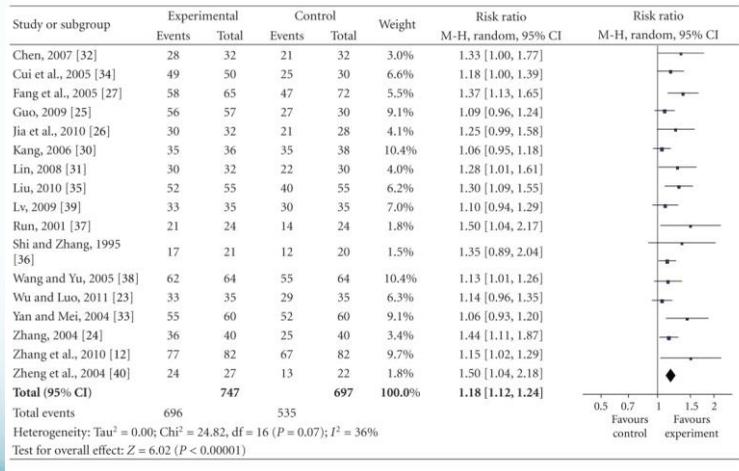
- 對該方的促進神經再生作用進行了系統研究，證明該方能調控多種神經再生相關的細胞信號，並促進中風後神經功能的修復
- 臨床治療中風是否有效？

集萃分析方法評價該方臨床療效



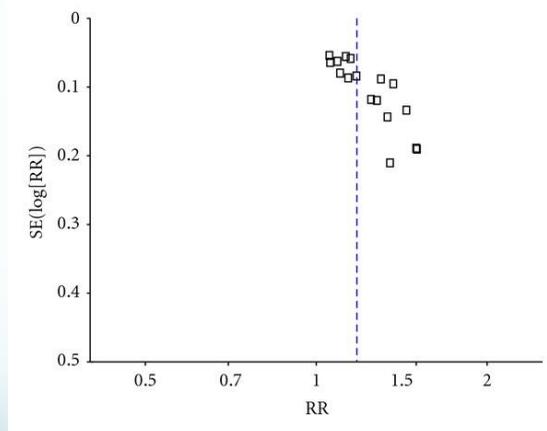
Hao CZ, Wu F, Shen JG, et al. Evid Based Complement Alternat Med. 2012; 2012: 630124.

集萃分析發現該方臨床治療中風促神經功能改善有效 Meta-analyses of the total effective rate of BHD therapy for acute ischaemic stroke.



Hao CZ, Wu F, Shen JG, et al. Evid Based Complement Alternat Med. 2012; 2012: 630124.

F集萃分析方法顯示臨床療效評價存在偏見 Funnel plot of the total effective rate of BHD therapy for acute ischaemic stroke.



Hao CZ, Wu F, Shen JG, et al. Evid Based Complement Alternat Med. 2012; 2012: 630124.

結論

- 中醫藥以其多成份和多靶點的治療策略在促進中風後神經再生腦修復有獨到的優勢
- 運用多學科技術和方法研究中藥複方，不僅為闡明中藥複方的治療原理提供希望，而且為中風新藥研究奠定基礎。

Acknowledgements:

Funds:

The study was supported by RGC GRF grant (No. 749504M, 774408M, 777610M, 777611M)

Seed Fund for Basic Research, HKU

Send Fund for Applied Research , HKU

Dr Wong BL Family Donation

Ms Kan SY Stem Cell Research Fund

