

行政院及所屬各機關出國報告
(出國類別：研究)

缺氧誘發因子與神經保護治療

服務機關：台灣大學醫學院附設醫院

出國人職稱：神經部主治醫師

姓名：呂建榮

出國地區：美國

出國期間：91年12月31日

至92年12月30日

報告日期：93年3月21日

T2

009106026

系統識別號:C09106026

公務出國報告提要

頁數: 18 含附件: 是

報告名稱:

九十一年度計畫/缺氧誘發因子與神經保護治療

主辦機關:

國立臺灣大學醫學院附設醫院

聯絡人/電話:

李美美/23123456-1582

出國人員:

呂建榮 國立臺灣大學醫學院附設醫院 神經部 主治醫師

出國類別: 研究

出國地區: 美國

出國期間: 民國 91 年 12 月 31 日 -民國 92 年 12 月 30 日

報告日期: 民國 93 年 03 月 22 日

分類號/目: J2/西醫 J2/西醫

關鍵詞: 缺氧誘發因子, 神經保護, 腦中風, 藥物實驗

內容摘要: 缺氧誘發因子 (Hypoxia inducible factor, 以下簡稱HIF-1), 控制Hypoxia responsive element的transcription 活動, 進而協助新生血管, 促進紅血球生成, 及鐵的運送, 並影響ATP的代謝等後續的反應。而這些反應, 認為應是有利於中風組織的復原。這個實驗的基本假說, 是假設倘若有一藥物可以增加HIF-1的生成, 那麼該藥物就具有神經保護的功效。實驗的目的, 就是在尋找一些能夠增強HIF-1生成的藥物。初步篩檢了960種藥品, 如果將標準訂在增加1.8倍視為有意義, 發現45種藥品具有增強HIF-1能力。如果將標準提高至2倍, 則有32種藥品可以符合標準。在這些藥品之中, 以Tilorone具有最強的增強能力, 與控制組比較, 其增進luciferase活性達9~10倍。

本文電子檔已上傳至出國報告資訊網

摘要

缺氧誘發因子 (Hypoxia inducible factor, 以下簡稱 HIF-1), 控制 Hypoxia responsive element 的 transcription 活動, 進而協助新生血管, 促進紅血球生成, 及鐵的運送, 並影響 ATP 的代謝等後續的反應。而這些反應, 認為應是有利於中風組織的復原。這個實驗的基本假說, 是假設倘若有一藥物可以增加 HIF-1 的生成, 那麼該藥物就具有神經保護的功效。實驗的目的, 就是在尋找一些能夠增強 HIF-1 生成的藥物。初步篩檢了 960 種藥品, 如果將標準訂在增加 1.8 倍視為有意義, 發現 45 種藥品具有增強 HIF-1 能力。如果將標準提高至 2 倍, 則有 32 種藥品可以符合標準。在這些藥品之中, 以 Tilorone 具有最強的增強能力, 與控制組比較, 其增進 luciferase 活性達 9~10 倍。

目次

| | |
|-----------|----|
| 目的..... | 3 |
| 過程..... | 5 |
| 心得..... | 7 |
| 建議..... | 10 |
| 參考資料..... | 13 |
| 附件一..... | 17 |

目的

近年來，在腦中風的基礎研究方面，成果相當豐碩。加上影像醫學技術的進步，不論是對於臨床或是在基礎研究方面，都提供了很大的幫助。然而，這些進步及發展，並未在腦中風的治療方面促成眾多改變。在急性腦中風的治療方面，到目前為止，只有一種治療的方式是被公認為是唯一有效的治療方式，那就是目前所盛行的血栓溶解治療術。但是，這一類的治療方式，一則因為受限於治療時間，所以實際受益的病人為數有限；另一則是因為具有出血併發症的危險性，以致有些醫師及家屬因而卻步。於是有學者致力發展神經保護製劑的研發。然而，在這方面的研究，在細胞學上或是以動物模式實驗的結果，雖然有很多藥物似乎具有效果；但是在臨床試驗的結果，卻未能找出一個具有神經保護功能的藥品。會造成這樣的情況，其成因固然很多，其中之一，可能是因為過去所使用的神經保護製劑都是針對缺血機制中的單一機轉投藥，然而腦組織在缺血之後的反應很複雜，以致於單一藥物無法阻擋整體的缺血反應，所以在臨床上試驗的結果都不能成功。針對這個問題，一種解決的方式是使用多種藥物，各藥物皆作用在不同的機轉，以期同時阻斷多個因缺血而誘發的致病機轉，以期達到療效。然而同時使用多種療效不確定的藥物，這樣的作法容易遭受批評。另外一種作法，就是發展出一個能夠阻斷多種致病機制，或是具有多方療效的藥物。這個研究的主要目的，就是希望能找到一個具有多種功效的神經保護製劑。

缺氧誘發因子 (Hypoxia inducible factor, 以下簡稱 HIF-1) 可能具有這樣的神經保護的功能。HIF-1 本身是一種蛋白質，其結構已經分析出來，是由一個 α 單位及一個 β 單位一起構成的分子。 α 單位有 3 種亞型，分別稱作 HIF-1 α 、HIF-2 α 及 HIF-3 α ， β 單位稱作 HIF-1 β 或 aryl hydrocarbon nuclear receptor (ARNT)。HIF-1 在有氧的情況之下，很容易就被分解掉；而在缺氧的情況之下，HIF-1 不會被分解所以能存在細胞中。這個複合的 HIF-1 蛋白質分子，本身是一種 transcription 因子，控制 Hypoxia responsive element (HRE) 的 transcription 活動，進而協助新生血管 (angiogenesis)，促進紅血球生成 (erythropoiesis)，及鐵

的運送，並影響 ATP 的代謝等等後續的反應。而這些反應，認為應是有助於中風的治療及復健。所以，如果能找到一些藥物，而這些藥物能促進 HIF-1 的生成，那麼，透過 HIF-1 後續的連鎖反應，這個藥物應該能發揮神經保護的功能。

這個實驗的基本假說，是假設倘若有一藥物可以增加 HIF-1 的生成，那麼該藥物就具有神經保護的功效。所以實驗的目的，就是在尋找一些能夠增強 HIF-1 生成的藥物。這些藥物最好是已經被許可的藥物，因為經過許可的藥物在使用安全上較無疑慮，較能安心使用在病人身上，可以儘快進行其後的各項相關試驗。萬一在已許可的藥物之中無法找到可供利用的藥物時，再考慮新藥的研發。目前，在這個實驗進行之前，只有 Deferoxamine (DFO) 是一種已知可以增強 HIF-1 的藥物。然而，DFO 並不能有效通過血腦障壁 (Blood-Brain Barrier, BBB)，所以並不能有效地用在缺血性中風的病人身上。本實驗的目的，是希望透過這個全面性的藥物篩檢之後，能夠找到一些具有潛力的藥物，能夠直接應用在腦中風的患者身上，來進行臨床藥物試驗。

過程

整個實驗的過程，可以分成數個階段。第一個階段，屬於藥品篩檢階段。可以利用細胞培養的方式，來檢視藥品對神經細胞的作用效果。第二個階段，則是針對篩檢出來的藥品，作進一步的定量分析，以確定該藥品是否真能具有增加 HIF-1 的能力。接下來的研究，可以再分成數個部份，一部份針對其生化機轉作研究，也就是研究該藥為何會增加 HIF-1 生成之生化機轉。一部份可以進行動物模式的實驗，檢視該藥在活體內的效果如何。另外一部份，則可以進行臨床試驗，檢視該藥在人體的實際功效。

本人所完成的部份，是屬於第一階段的藥品篩檢的部份，所篩檢的藥品，是 960 種經過美國國家食品藥物局 (Food and Drug Administration, FDA) 所許可使用的藥物。選用這些藥物的目的，是希望在找到一些能增加 HIF-1 的藥物之後，能夠省去在藥物安全性這方面的研究時間，而能儘快進行接下來的動物實驗，甚至以所謂的非適應症的使用方式 (off-label use) 來申請進行臨床試驗。

實驗所使用的神經細胞，是使用 HT-22 Cell Line。這是一種由 Neuroblastoma 所培養出來的 cell line。在這種 HT-22 細胞之中植入 HRE 及螢光酶的基因，做成具有 HRE-luciferase 的 HT-22 cell，即可將 luciferase 當作一個 genetic reporter，藉由檢視 luciferase 來間接篩檢 HIF-1 的生成。這種 cell line 是該實驗室原先就研發成功的一種 cell line，本人並未參與此種 cell line 之製作。

在實驗的第一階段裡，所選擇的試驗濃度是單一濃度 (10 μ M)。在初步篩檢之後，可以選擇一些有興趣的藥物，進行數種不同濃度的試驗。實驗的控制組，除了一組不加藥的控制組之外，另外有以 10 μ M 及 100 μ M 之 DFO 作為比較 (DFO 是一種已知具有增強 HIF-1 功能的藥物)。在做 luciferase 分析的同時，也進行以 MTT 分析其細胞存活的情況，以期初步了解藥物對細胞的毒性。但這種分析有其缺點，就是此分析得與 luciferase 的分析在不同的培養皿中進行。所以，在初步篩檢之後為了要以蛋白質的量來校正 luciferase 分析的結果，則改為採用 MTS 分析方式。

在初步的篩檢階段裡，篩檢了 960 種藥品，如果將標準訂在增加 1.8 倍視為有意義，在 960 種藥品中有 45 種具有增強 HIF-1 能力。如果將標準提高至 2 倍增加才視為有意義者，則有 32 種藥品可以符合標準。這種標準的選擇，其實是很主觀。在這些藥品之中，以 Tilorone 具備有最強的增強能力，與控制組比較，其增進 luciferase 活性達 9~10 倍之多。其次是 Indoprofen 然而，在進一步分析的過程中，Tilorone 並未能持續表現其優異的增強能力，反而發現了 Ciclopirox 和 Clofoctol 可以明顯增加 luciferase 之活性。這些 45 種藥物名稱及其增進之強度，如附件一。

心得

整個研究的目的及經過都是涉及藥物實驗，然而我的心得與建議卻未必全然與此相關。我在一開始做實驗的時候，心裡就有一個想法，像這一類的細胞培養的實驗方式，其中很多步驟，其實可以交給機器來作。以細胞培養的方式來評估藥物在神經細胞是否具有促進或是抑制 HIF-1 的功效，將培養皿中的細胞數目控制在一定的範圍內是一個重點。為了要控制細胞數目這一個變項，其實可以用機器人的操作來改善人為的誤差，讓每個培養皿中的細胞數目能更準確地維持在一個範圍之內，以減少實驗的誤差。只是，我並不清楚在台大醫院或是醫學院是否已經有這樣的機器可以來做 plating 的工作。

等到我的實驗進行到一半的時候，我開始覺得實驗相當枯燥乏味。這個實驗是在 Beth Israel Deaconess 醫學中心的神經保護研究室中進行。實驗的基本設計，其實都十分簡單，所使用的儀器也並不複雜，涉及的細胞培養的一切設備及過程，在台大醫學院裡也一定都發展得頗具規模。所以基本上，本人這次研究，並不是去學得任何新的技術，我相信這些技術和設備在台大醫學院中一定都有。只可惜，我們沒有哈佛那批學者那樣的想法。所以那時候我心裡覺得，想法才是最重要的。而我在回國之後，再回頭來看。這次研究，對我而言是個難得的經驗，我個人在這之前，從未有長時期完全在實驗室中工作過之經驗，我在到這個實驗室之前，也坦白向我的指導者 Dr. Ratan 說明我的情況。於是 Dr. Ratan 讓我從頭開始學起，所以在這段過程中，我學到了實驗室中培養細胞過程裡很多不可忽略的小細節。這些小地方，乍看之下似乎沒什麼重要。然而，要想得到一個高品質的實驗結果，這些細節的確是不可或缺的重點。

藥物的篩檢雖然是很枯燥的一項實驗，可是其實是一項最基本的實驗，活體外的藥物實驗，的確是動物實驗及臨床試驗之前先要準備好的基本要求。因為，不可能把每一種藥物都直接拿來做動物實驗。作藥物的實驗，也是和臨床治療最直接相關的一種實驗。然而，實驗的藥物所費不貲。所以，趁這次在國外研究的機會，正好利用該研究室的資源，進行藥物篩檢的工作。我藉由這次研究的機會，

篩檢 960 種藥物，而發現了有 45 種可能增加 HIF-1 生成的藥物，可以利用這些結果，進行下一步的實驗。我也對一些中風患者常用的處方做一些篩檢，結果發現，中風常用的藥物包括 aspirin 等，並不能增加 HIF-1 的生成。而能夠促進 HIF-1 生成的藥物，是一些抗生素 Tilorone 消炎藥 Indoprofen 以及一些很罕用的藥物。所以，根據實驗的初步結果，目前並不能將這些藥物應用於中風的治療。但是，依然可以利用第一階段的實驗結果，進行下一個階段的實驗；而接下來實驗的重點，則可以注重於作用機轉的研究。

在實驗過程當中，我原以為 Tilorone 是一個有趣的藥物，是一個可以研究的方向，也許可以藉由對 Tilorone 的研究，能增進對 HIF-1 的了解，以期研發新的藥物能增進 HIF-1 的生成。在文獻查閱的過程當中，我偶然發現，Tilorone 也曾被拿來治療庫賈氏病 (Creutzfeldt-Jakob disease, CJD)，這又引起我對這個藥物有更大的興趣。庫賈氏病是一種 Prion 疾病，目前對這個疾病仍無法治療，過去 30 年以來，曾被研究過的藥物不下 60 種，然而這些藥物的效果僅限於細胞培養的研究結果有效；但若使用在動物身上，一旦疾病的症狀發生了，即使給藥，治療的效果都很不好，頂多只能延緩疾病進展的速度。近年來，在美國加州大學舊金山分校(UCSF)的研究之下，將焦點放在 Quinacrine 及 Chlorpromazine 這兩種藥物。然而，我曾經遵循他們的治療方式，治療過兩個病人。結果，這兩個病人對治療的反應都很差，只不過把他們的病程拖延久了一點而已。如果照文獻所記載，Tilorone 的作用機轉，和 phenothiazine 同樣是屬於 lysosomatrophic 藥物。再加上我實驗的結果，Tilorone 又具有增加 HIF-1 生成的能力。這樣的巧合，讓我很希望能在庫賈氏症病人身上試驗這個藥物。原本以為 Tilorone 是一個已經是 FDA 所許可的藥物；然而，經過查詢才知道 Tilorone 並不是在 FDA 所許可的藥物之中，國內當然也尚未有此藥物上市。至此，不免有些失望。我在出國之前，原本是計劃前往華盛頓大學，研究腦血流，看看所謂的血管性失智症和細胞凋零之間的關係，然而，我到了哈佛之後，改變了我原本的計劃，改做藥物的實驗。其中，最主要的因素，是因為我的想法有所轉變：不論是對於中風的治療，或是

對於庫賈氏病的治療，我總希望能擺脫治療上的虛無主義，設法改善病人的症狀。

來到美國一年，有個感觸就是，我們台大醫院的臨床訓練並不亞於波士頓的醫院；然而，在基礎研究方面，我們的確有不如人之處。以 HIF-1 的研究為例，在國外有很多領域，包括研究心臟血管疾病，腦血管疾病，以及腫瘤醫學的專家們，在近三、四年以來，都涉及到 HIF-1 的研究。我在 2000 年中的時候，見到許重義教授之時，許重義教授就指點我血管新生(angiogenesis)是一個很值得發展的方向，只是我當時並不能了解許重義教授的意思，甚至一直到我出國之前，我對於 HIF-1 依然一無所知，這一點就值得自我檢討。所處的環境，對於一個人的影響真的很大。國外有很多人致力於 HIF-1 的研究，我在國內時竟然毫不知情，一直要到身歷其境，才能了解到原來這方面的研究已經急速進步，自己才驚覺自己已經落伍了。我這次出國研究，即使自己研究的成果不太豐碩，然而，有一個很大的感觸，就是對於世界上先進的研究趨勢及新知，即使自己並不是親自涉略，也應該多加注意了解，這樣才能跟上時代的潮流。

建議

做基礎實驗的目的，就是在解除臨床上的一些疑惑。如前所述，台大醫院在臨床訓練方面，並不亞於波士頓的那些大醫院。然而，我們在基礎研究方面，的確有待加強。我也相信，醫學院方面資源豐富，若能與醫院的臨床醫師們配合，對於提昇學術研究的水準，一定會有很大的助益。以腦中風的研究為例，本院神經部在流行病學方面的表現，已獲得相當多的肯定。接下來，應該要把臨床上尚未解決的問題，朝向分子生物學的領域去思考。也許有很多問題在一時之間無法立刻找到答案，但我相信，努力營造一個富於思考基礎層面的環境，對於學術的研究，一定會有幫助。這是時代的潮流，也是我們不得不走的路。

然而，在實際運作時該怎麼做？在運作的過程之中會遭遇到什麼困難？一個很實際的問題就是人力與時間的限制。臨床醫師平日的工作負擔本來就大，如果單靠臨床醫師一己之力兼負基礎研究的工作，不容易做出高品質的論文。以目前世界上對腦血管疾病的研究為例，對於腦血管疾病的基礎研究，在各個層級都有很傑出的研究成果。不論是在細胞的層級在研究藥物在體外的作用及機轉，或是以動物模式來研究中風在活體內的機轉或是藥物在活體內的效應，甚至配合影像醫學的進展，研究的層面的確很廣泛。以台大醫院神經部目前的人力及設備，沒有辦法面面俱到，應該要由專家們訂定一個研究的方向，確定研究的重點應放在哪一個層級，然後才能致力發展出自己醫院的研究特色。神經科學既然是院方制定要發展的方向，那麼不論是人力，設備，都應該要整合發展出一套具有特色的研究，才有可能開創出一個新的局面。

回過頭來審視台大醫院神經部，個人覺得在腦血管疾病方面，目前可以做的，是有關腦血流的自主調節功能的研究。因腦血流情況不好而造成的情況，在臨床上有所謂的血管性失智症，血管性巴金森症，甚至近來者有所謂的血管性憂鬱症。從字面上看來，意指著這些失智症，憂鬱症，以及巴金森症的發生，與病患的腦血管疾病有關；然而，實際上，卻是包括了一群病因不明的病人。以往研究這一類病人的一個觀念，就是認為腦血流的減少之後，造成病人失智等臨床症

狀。然而，腦血流要少到什麼程度才算少，其實很難定義。針對這個問題，我們可以換個想法，改用腦血流的情況好不好來代替腦血流流量的多或少，用這種想法來定義所謂的血管性失智症。所謂腦血流的情況好不好，其實就是指測量其自主調節（autoregulation）之功能。如果腦血管自主調節功能不好的失智症病人，我們就定義他們是血管性失智症；這樣的定義，如果能被接受的話，會比較清楚。我在出國進修之前一直在想這個問題，這個問題從台灣帶到美國，而又從美國帶回台灣。回到台大之後，發現科內同仁已經開始在做相關的研究了。這方面的研究雖非現今研究的顯學，然而個人覺得這是值得鼓勵去做的一個方向：因為我們在這方面已經有了研究的想法，只欠研究的設備。要做這種腦血管的自主調節功能的檢查，需要一台穿顱超音波監測器，這個機器，在神經部已經有了；另外還需要一台非侵襲性的血壓監測儀；兩者配合起來，就可以推算出腦血流量與血壓之間的相關性，藉此推算出腦血管的自主調節的能力。這種測量，臨床的應用也很廣，加上醫工的配合，以電腦分析，甚至可以做出 real time 的新儀器，來評估腦血管的自主調節能力。然而，很可惜，在神經科目前仍無血壓監測儀，所以建議院方資助購買一部非侵襲性的血壓監測儀。做研究最困難的一點是創新觀念；如果能有個具有潛力的想法，就值得鼓勵。我們如果只是遵循著國外研究者的足跡，無法跳出他們已經設立的模式，就難有創見；但是，我們如果在我們自己所創立的觀念之下再來做發揮，應該會有更好的表現。

為何需要發展神經保護製劑的研發？這是個值得發展的一個方向。我希望研製出來的神經保護製劑不僅可以用在中風的病人身上，也可以應用在老人失智症，巴金森氏症等退化性疾病的病人身上。就中風的病人而言，以往神經保護製劑的臨床試驗一直不能成功的原因，除了中風之後的缺血反應其機轉十分複雜之外，因為血管阻塞而不能將藥物送達缺血的組織也是因素之一。而今，血栓溶解治療術的臨床試驗成功之後，應該可以在 rt-PA 將血栓溶解之際，一併加上神經保護製劑，以達更好的預後。如果有一個確實具有保護神經組織的功能的製劑，上述的“雞尾酒療法”是值得嘗試的一個作法。

怎麼樣去著手研發神經保護製劑？HIF-1 也許是一個值得研究的方向。以目前的情況看來，HIF-1 是一種研究的趨勢。然而，在台大醫院是否得要繼續研究 HIF-1，其實值得專家們一起來討論。我剛開始接觸 HIF-1 時，對它並不是很了解，我先假設增加 HIF-1 就具有治療腦中風的功效，所以就動手做下去。接觸更多的文獻資料之後，我才又回過頭來思考 HIF-1 是否真的具有保護神經組織的功能。目前已有文獻報告，將 HIF-1 基因轉植的老鼠的腦血管阻塞，造成梗塞的情況之後，組織的修復的情況會比較好。果真如此，HIF-1 應具有保護神經組織之功效，對急性中風的病人應有幫助。

HIF-1 的研究是一種趨勢，而且似乎是一個值得研究的趨勢。在這方面，我只能算是剛入門的新手，仍須要學習，不敢有太多的建議。而根據本院神經部目前實際的情況來看，我的建議是，先發展腦血流的自主調節功能的研究之後，再應用我這次研究的結果，擴大研究的範圍，對神經保護之機轉及製劑做相關的研究。

References:

1. Caplan, L.R. (1998). Stroke treatment. Promising but still struggling [editorials]. JAMA 279, 1304-06.
2. Fisher, M. and Bogousslavsky, J. (1998). Further evolution towards effective therapy for acute ischemic stroke [special communication]. JAMA, 279, 1298-303.
3. Strauss, W.E., Thies, W.H., Robertson, R.M. and Adams, H. (1998). Fighting heart disease and stroke. Recommendations of the AHA stroke positioning task force. Stroke 29, 535-42.
4. Caro, J. (2001). Hypoxia regulation of gene transcription. High Alt Med Biol, 2, 145-54.
5. Bunn, H.F., Gu, J., Huang, L.E., Park J-W., and Zhu, H. (1998). Erythropoietin: A model system for studying oxygen-dependent gene regulation. J Exp Biol, 201, 1197-201.
6. Semenza, G.L., Wang, G.L. (1992). A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. Mol Cell Biol, 12, 5447-54.
7. Wang, G.L., Semenza, G.L. (1995). Purification and Characterization of Hypoxia-inducible factor 1. J Biol Chem, 270, 1230-7.
8. Wang, G.L., Jiang, B.H., Rue, E.A., Semenza, G.L. (1995). Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. Proc Natl Acad Sci USA, 92, 5510-4.
9. Semenza, G.L. (2000). HIF-1 and human diseases: one highly involved factor. Genes Dev. 14, 1983-91.
10. Lando, D., Gorman, J.J., Whitelaw, M.L., Peet, D.J. (2003). Oxygen-dependent regulation of hypoxia-inducible factors by prolyl and asparaginyl hydroxylation.

Eur J Biochem, 270, 781-90.

11. Fisher, M., Ratan, R.R. (2003). New perspectives on developing acute stroke therapy. *Ann Neurol*, 53, 10-20
12. Bergeron, M., Yu, A.Y., Solway, K.E., Semenza, G.L., and Sharp, F.R. (1999). Induction of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) and its target genes following focal ischemia in rat brain. *Eur. J. Neurosci.* 11: 4159-4170
13. Iyer, N.V., Kotch, L.E., Agani, F., Leung, S.W., Laughner, E., Wenger, R.H., Gassmann, M., Gearhart, J.D., Lawler, A.M., Yu, A.Y. et al. 1998. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 α . *Genes & Dev.* 12: 149-162
14. Marti, H.J., Bernaudin, M., Bellail, A., Schoch, H., Euler, M., Petit, E., and Risau, W. 2000. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia. *Am. J. Pathol.* 156: 965-976
15. Jiang, B.-H., Rue, E., Wang, G.L., Roe, R., and Semenza, G.L. 1996. Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 271: 17771-17778
16. Halterman, M.W., Miller, C.C., and Federoff, H.J. 1999. Hypoxia-inducible factor-1 α mediates hypoxia-induced delayed neuronal death that involves p53. *J. Neurosci.* 19: 6818-6824
17. Carmeliet, P., Dor, Y., Herbert, J.-M., Fukumura, D., Brusselmans, K., Dewerchin, M., Neeman, M., Bono, F., Abramovitch, R., Maxwell, P. et al. 1998. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation, and tumour angiogenesis. *Nature* 394: 485-490
18. An, W.G., Kanekal, M., Simon, M.C., Maltepe, E., Blagosklonny, M.V., and Neckers, L.M. 1998. Stabilization of wild-type p53 by hypoxia-inducible factor 1 α . *Nature* 392: 405-408

19. Banasiak, K.J. and Haddad, G.G. 1998. Hypoxia-induced apoptosis: Effect of hypoxic severity and role of p53 in neuronal cell death. *Brain Res.* 797: 295-304
20. Gidday, J.M., Fitzgibbons, J.C., Shah, A.R., and Park, T.S. 1994. Neuroprotection from ischemic brain injury by hypoxic preconditioning in the neonatal rat. *Neurosci. Lett.* 168: 221-224
21. Bolli, R., Manchikalapudi, S., Tang, X.-L., Takano, H., Qiu, Y., Guo, Y., Zhang, Q., and Jadoon, A.K. 1997. The protective effect of late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is mediated by nitric oxide synthase: Evidence that nitric oxide acts both as a trigger and as a mediator of the late phase of ischemic preconditioning. *Circ. Res.* 81: 1094-1107
22. Gidday, J.M., Shah, A.R., Maceren, R.G., Wang, Q., Pelligrino, D.A., Holtzman, D.M., and Park, T.S. 1999. Nitric oxide mediates cerebral ischemic tolerance in a neonatal rat model of hypoxic preconditioning. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 19: 331-340
23. Bergeron, M., Gidday, J.M., Yu, A. Y., Semenza, G.L., Ferriero, D.M., and Sharp, F.R. 2000. Role of hypoxia-inducible factor 1 in hypoxia-induced tolerance in neonatal rat brain. *Ann. Neurol.* 48, 285-96
24. Wang, G.L. and Semenza, G.L. 1993. Desferrioxamine induces erythropoietin gene expression and hypoxia-inducible factor 1 DNA-binding activity: Implications for models of hypoxia signal transduction. *Blood* 82: 3610-3615
25. Ruscher, K., Isaev, N., Trendelenburg, G., Weih, M., Iurato, L., Meisel, A., and Dirnagl, U. 1998. Induction of hypoxia inducible factor 1 by oxygen glucose deprivation is attenuated by hypoxic preconditioning in rat cultured neurons. *Neurosci. Lett.* 254: 117-120
26. Elson DA, Thurston G, Huang LE, Ginzinger DG, McDonald DM, Johnson RS, Arbeit JM. 2001. Induction of hypervascularity without leakage or inflammation

- in transgenic mice overexpressing hypoxia-inducible factor-1 alpha. *Genes Dev.* 15(19): 2520-32.
27. Agani FH, Pichiule P, Chavez JC, LaManna JC. 2000. The role of mitochondria in the regulation of hypoxia-inducible factor 1 expression during hypoxia. *Biol Chem.* 275(46): 35863-7.
28. Bazan NG, Palacios-Pelaez R, Lukiw WJ. 2002. Hypoxia signaling to genes: significance in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol.* 26 (2-3): 283-98.
29. Moley KH, Mueckler MM. 2000. Glucose transport and apoptosis. *Apoptosis.* 5(2): 99-105.
30. Soucek T, Cumming R, Dargusch R, Maher P, Schubert D. 2003. The regulation of glucose metabolism by HIF-1 mediates a neuroprotective response to amyloid beta peptide. *Neuron.* 3;39(1): 43-56

附件一

| 藥品名 | 增加倍數 | 藥品名 | 增加倍數 |
|-------------------------------|------|---------------------------|------|
| Tilorone | 9.67 | Pirenzepine hydrochloride | 2.15 |
| Indoprofen | 4.18 | Tripolidine hydrochloride | 2.12 |
| Ciclopirox olamine | 2.99 | Daidzein | 2.11 |
| Tryptophan | 2.87 | Tripeleannamine citrate | 2.09 |
| Anisindione | 2.69 | Colchicine | 2.08 |
| Nabumetone | 2.69 | Aminopyridine | 2.08 |
| Oxybendazole | 2.5 | Trimethoprim | 2.05 |
| Albendazole | 2.49 | Helenine | 2.03 |
| Tropicamide | 2.47 | Hydroxyurea | 2.02 |
| Pramoxine hydrochloride | 2.46 | Amiodarone hydrochloride | 1.99 |
| Atenolol | 2.43 | Clindamycin hydrochloride | 1.99 |
| Mebendazole | 2.42 | Sulfachlorpyridazine | 1.98 |
| Carbetapentane citrate | 2.42 | Mephensin | 1.97 |
| Monensin Sodium | 2.41 | Semustine | 1.94 |
| Methoxyvone | 2.37 | Clofibric acid | 1.91 |
| Hydroxyzine pamoate | 2.36 | Deferoxamine mesylate | 1.89 |
| Phenazopyrimine hydrochloride | 2.36 | Ibuprofen | 1.89 |
| Clofocetol | 2.31 | Hyoscyamine | 1.86 |

| | | | |
|------------------------------|------|-------------------|------|
| Ipraflavone | 2.23 | Nafcillin sodium | 1.86 |
| Zomepirac sodium | 2.19 | Piperin | 1.84 |
| Biochanin A | 2.19 | Clidinium bromide | 1.8 |
| Xylometazoline hydrochloride | 2.18 | Trioxsalem | 1.8 |
| Fenbendazole | 2.15 | | |
