

**【台灣藥理學會會務】****【111年度台灣藥理學會學術獎項申請】**

擬於10月初寄發給會員申請111年度「台灣藥理學會 李鎮源教授傑出研究獎」、「台灣藥理學會 杜聰明博士年輕學者獎」以及「台灣藥理學會 杜聰明博士研究生論文獎」獎項通知信函，預定申請截止日期為111年12月31日止。

**【2023第37屆生物醫學聯合學術年會(JACBS)】**

生物醫學聯合學術年會(JACBS)是國內歷史最悠久、且規模最盛大的指標性學術會議。明年2023年第37屆生醫年會將由本學會輪值主辦，時間是112/3/18-19於國防醫學大學舉辦。年會相關活動將於10月上旬陸續展開，懇請所有會員屆時共襄盛舉，踴躍支持第37屆JACBS，並邀請新會員於111/12/15前加入學會。此外於112/3/18晚上舉辦藥理學之夜，相關訊息日後再行公布。

**【2022年唐獎】**

新冠疫情肆虐2年多，今年唐獎生技醫藥獎特地頒發給3位開發新冠病毒(SARS-COV-2) mRNA疫苗的科學家，分別是卡塔林·卡里科(Katalin Kariko)、德魯·魏斯曼(Drew Weissman)和彼得·庫利斯(Pieter Cullis)，並於9/20及9/28兩天舉辦『2022第5屆大師論壇』與國內研究人員交流座談。

線上影片連結為：<https://www.youtube.com/watch?v=qF-uFLbKTkQ> (9/20) and <https://www.youtube.com/watch?v=LoK94h9QFIM> (9/28)，歡迎有興趣的會員上網收看。

**【招募學生會員】**

1. 本會依循106年第五次理監事會議決議，當年度入學之新生於當年9~12月申請暨完成學生會員入會申請者，可享受優惠無需繳交學生會員入會費，僅需繳交常年會費。
2. 本會入會申請表請見 [http://www.pharmacology.org.tw/memberlist\\_index.php](http://www.pharmacology.org.tw/memberlist_index.php)

## 【學術研究發展新知】

## 淺談位於內質網之新型生長因子在中風後腦損傷的神經保護及免疫調節之功能

三軍總醫院神經外科暨  
國防醫學院醫學系 曾冠穎助理教授

## 前言

腦中風是導致死亡的第三大原因，也是導致殘疾的主要原因。造成神經功能損傷的主因是神經細胞的死亡與不完全的恢復<sup>1</sup>。腦中風大致可區分為腦梗塞及腦出血。每年約有1000萬的患者因腦中風造成神經功能的損傷，需接受長時間的復健治療<sup>2</sup>。在美國，估計直接或間接用於急性和慢性中風治療每年費用總額超過710億美元。而在台灣，每年有125000例患者發生腦中風，且每年中風患者須負擔的治療費用高達六十萬台幣<sup>3</sup>。年齡是腦中風最主要的危險因素之一，腦中風的發生率從15-24歲的0.01%增加到85歲開始的1.5-3%<sup>4</sup>。因此，隨著社會老齡化的到來，我們將面對逐漸增加的中風患者及之後所需要的醫療費用。可惜的是，到目前為止並沒有任何一種藥物是有效的改善腦中風後的神經功能損傷。在急性腦梗塞的患者，雖可在中風後四小時內接受血栓溶解治療，但療效個人差異度很大，且會有術後腦出血的風險。至於腦溢血，到目前為止並沒有一個有效的治療方式<sup>5,6</sup>，手術只能改善腫塊效應<sup>7-10</sup>，對之後神經功能的恢復並沒有顯著上的幫助<sup>11-14</sup>。因此，我們急需研擬出可改善因腦中風導致神經功能損傷的新治療策略。

## 位於內質網內的新型神經滋養因子

大腦多巴胺神經滋養因子(Cerebral dopamine neurotrophic factor, CDNF)和中腦星形膠質細胞衍生的神經滋養因子(Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)起初被認為是體外多巴胺神經元所分泌的生長因子，其蛋白質的分子量約為18Da<sup>15,16</sup>。MANF/CDNF的三維結構顯示它具有N-和C-末端的獨立結構並由模塊連接子(linker)來連接兩個結構域<sup>17,18</sup>(圖1A)。N-末端結構含有單一的肽鏈，及含有8個保守的半胱氨酸，類似於脂質和鞘脂激活蛋白(saposins)的膜結合蛋白家族。C-末端模塊有三個 $\alpha$ -螺旋，其三維結構類似於SAP蛋白。SAP基序在各種蛋白質中是參與RNA加工，DNA修復和凋亡染色質降解。此外，C-末端模塊具有CXXC基序，這對於此類蛋白質的生物學和促進生存的作用是至關重要。MANF/CDNF C-末端RTDL基序，會被內質網的KDEL受體識別，但與KDEL受體結合的共有序列(KDEL)卻不同(圖1B)。因為結構和受器與傳統的神經生長因子不同，MANF與CDNF共同組成一組新的神經滋養因子。

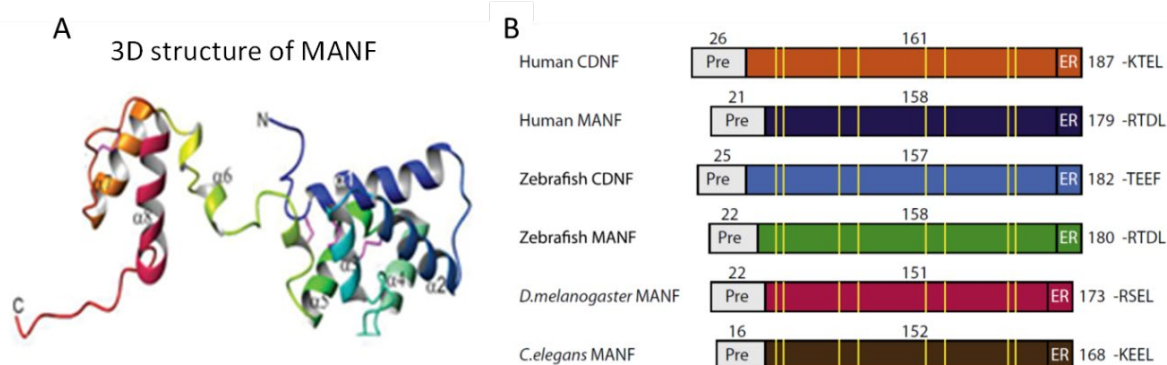


圖1. MANF與CDNF一起形成一種新型的神經滋養因子家族。A：人類MANF的3D結構揭示了N端和C端結構域通過柔性連接器(linker)連接。B：人類和斑馬魚(zebrafish)具有CDNF和MANF蛋白以及黑腹果蠅(D. melanogaster)和線蟲(C. elegans)相似的MANF蛋白，其全部具有8個保守的半胱氨酸，16-26個氨基酸長信號序列(Pre)，152-161個氨基酸長成熟形式和C端的KDEL受體保留序列。

在正常環境下，MANF/CDNF會與Hrd1, GRP78, PDI 共同顯影在內質網上，證明MANF/CDNF在一般狀況下是停留在內質網上，只有少部分的MANF會被釋放出細胞外<sup>15,18-20</sup>。而當內質網中鈣離子降低，MANF會被大量從內質網中釋放出來。當細胞死亡時，胞外MANF的濃度也會明顯的增加。然而，MANF/CDNF對於內質網恆定的調控及被釋放的方式也會因不同組織或細胞型態而有所差別<sup>21</sup>。MANF/CDNF是一種高度可溶性的蛋白質，在腦內注射此類新型生長因子可以得到良好的擴散能力。與神經膠質細胞系衍生的神經營養因子（GDNF）相比，MANF/CDNF 蛋白具有明顯更好的組織擴散特性<sup>22,23</sup>。雖然外源性MANF如何進入或是影響細胞的機轉仍不是很清楚，在近期的研究中，MANF 可以直接與細胞膜上的neuroplastin相結合。由於其C 末端具有 RTDL 基序，細胞內 MANF 通過 KDEL 受體被拉回內質網。MANF 也可能藉由結合於細胞膜上的 KDEL 受體被細胞內吞化。當細胞受到刺激後，存在於質膜上的KDEL受體增加，暗示MANF可能可以藉由這樣的機制去達到細胞保護的效果。然而，在我們近期的研究中發現沒有 RTDL 序列的 MANF 在體內仍然對缺血性中風具有保護作用。表明 KDELR 對於MANF在中風中的神經保護作用不是必需的。此外，已顯示硫酸鹽（sulfatides）與細胞外 MANF 蛋白結合並增強其內吞作用進入細胞，因此被認為可作為細胞表面受體發揮作用。此外，細胞外 MANF 的細胞保護作用是硫酸酯依賴性的（sulfatide-dependent），與硫酸酯結合的 MANF 能夠降低哺乳動物細胞中的內質網壓力（ER stress）。但我們仍然不知道 MANF在與硫酸酯(sulfatide)結合後如何進入細胞發出信號。此外，經重組 CDNF 蛋白在腦內注射後藉由非特異性內吞作用進入神經元細胞，但到目前為止，沒有證據表明該蛋白質會在內吞作用後最終進入內質網。更複雜的是，MANF/CDNF 僅對受到內質網壓力下的細胞才有作用。因此，未來仍需要對 MANF/CDNF 的細胞攝取機制和可能的細胞表面受體進行更多的研究。

### MANF/CDNF對於腦中風後神經保護之功能

在過去的研究中，MANF和CDNF已被證明在帕金森病動物模型中具有保護和修復多巴胺神經元的功能<sup>22-24</sup>。此外，施打重組MANF蛋白（recombinant human MANF; rhMANF）或AAV-MANF（攜帶MANF的cDNA的腺伴隨病毒載體）來高度表達MANF皆可保護神經元免於缺血性中風傷害並減少細胞凋亡<sup>25,26</sup>。相反的，在果蠅中，MANF表達缺失會導致多巴胺神經系統缺陷<sup>27</sup>。而在小鼠中，MANF的缺失會導致胰腺β細胞的凋亡進而產生第1型糖尿病<sup>28</sup>。若利用基因的調控造成腦內神經細胞失去MANF表達，被影響的神經細胞在缺血性腦中風後則更容易受傷或死亡<sup>29</sup>。雖然CDNF/MANF具有傳統神經滋養因子的某些特性，如類似神經膠質細胞系衍生的神經營養因子(GDNF)，可以在體外和體內減少神經細胞的凋亡並抑制其死亡。然而，它們具有完全不同的作用機制；CDNF/MANF是位於內質網（Endoplasmic reticulum; ER）的蛋白，當內質網因外在環境或是細胞需要處理大量蛋白結構時，內質網上的GRP78（葡萄糖調節蛋白78kDa，又稱BiP）會活化並啟動未折疊的蛋白質反應（unfolded protein response; UPR）<sup>30</sup>。此反應是一種使細胞能夠應付蛋白質負荷累積至ER並減輕ER壓力（ER stress）的途徑<sup>31,32</sup>。UPR有三條下游信號通路<sup>30,33</sup>：PERK（蛋白激酶RNA樣內質網激酶）<sup>34</sup>，Irel（肌醇需要激酶1）<sup>35</sup>和ATF6（激活轉錄因子6）通路<sup>36</sup>。當給予毒胡蘿蔔素(Thapsigardin)於細胞時，會導致內質網內  $Ca^{2+}$ 耗竭，進而導致Bip(GRP78)解離於PERK 接受器與IRE 接受器，並促使其磷酸化，導致eIF2 $\alpha$ 磷酸化，增加ATF4易位於細胞核中和造成Xbp1 的切割，進而增加細胞對胺基酸代謝，增加chaperon protein和脂質合成以及促使氧化壓力的恆定；但當內質網壓力持續增加，細胞則會走向凋亡，壞死或是自我吞噬的路徑。在啟動未折疊的蛋白質反應(UPR)時，新產生出的MANF/CDNF會在內質網中扮演Chaperon的角色，負責緩和內質網的壓力；其餘則會離開內質網而從細胞內分泌出去，提供細胞滋養因子的功能<sup>37,38</sup>。當利用基因的調控造成果蠅和小鼠中MANF的缺失，則導致長時間UPR的活化，最終導致細胞凋亡<sup>38</sup>。目前，已經發現MANF啟動子（promoter）含有ER反應元件(ER response element: ERSEII)，而這ERSEII 是可被ATF6和sXBPI識別並且切割的。此外，MANF與GRP78會相互作用，進而改善內質網的壓力<sup>17,39</sup>。因此，MANF被認為其神經保護機制主要通過以調節並減緩急性UPR反應來達成<sup>40</sup>。在之前的研究中，MANF不僅表達在已分化的神經細胞中，更在小鼠腦室下區（subventricular zone）的神經幹細胞（Neural stem cells: NSCs）與培養皿內神經前驅細胞球團

(neurospheres)有高度的表現(圖2A)，暗示MANF與神經發育有密切的關係。我們也發現體外培養的MANF缺陷型神經幹細胞(MANF-KO NSCs)有嚴重神經分化缺陷<sup>41</sup>。在MANF-KO小鼠中證明大腦皮質神經元的軸突生長也較為緩慢(圖2C)。從MANF-KO小鼠中分離的NSCs分析也說明MANF缺失會導致體外對缺氧誘導的細胞死亡的易感性增加(圖2D)。更重要的是，MANF的給予可以加速神經幹細胞的遷移在腦中風之後。因此，MANF可藉由調節內質網的壓力及維持細胞內蛋白恆定來促進神經幹細胞分化，軸突的生長及遷移與減少細胞凋亡<sup>41,42</sup>。與MANF有相似的結構CDNF，也被證實與MANF相似的能力去降低內質網壓力來減少神經細胞的凋亡<sup>23,24,43</sup>。

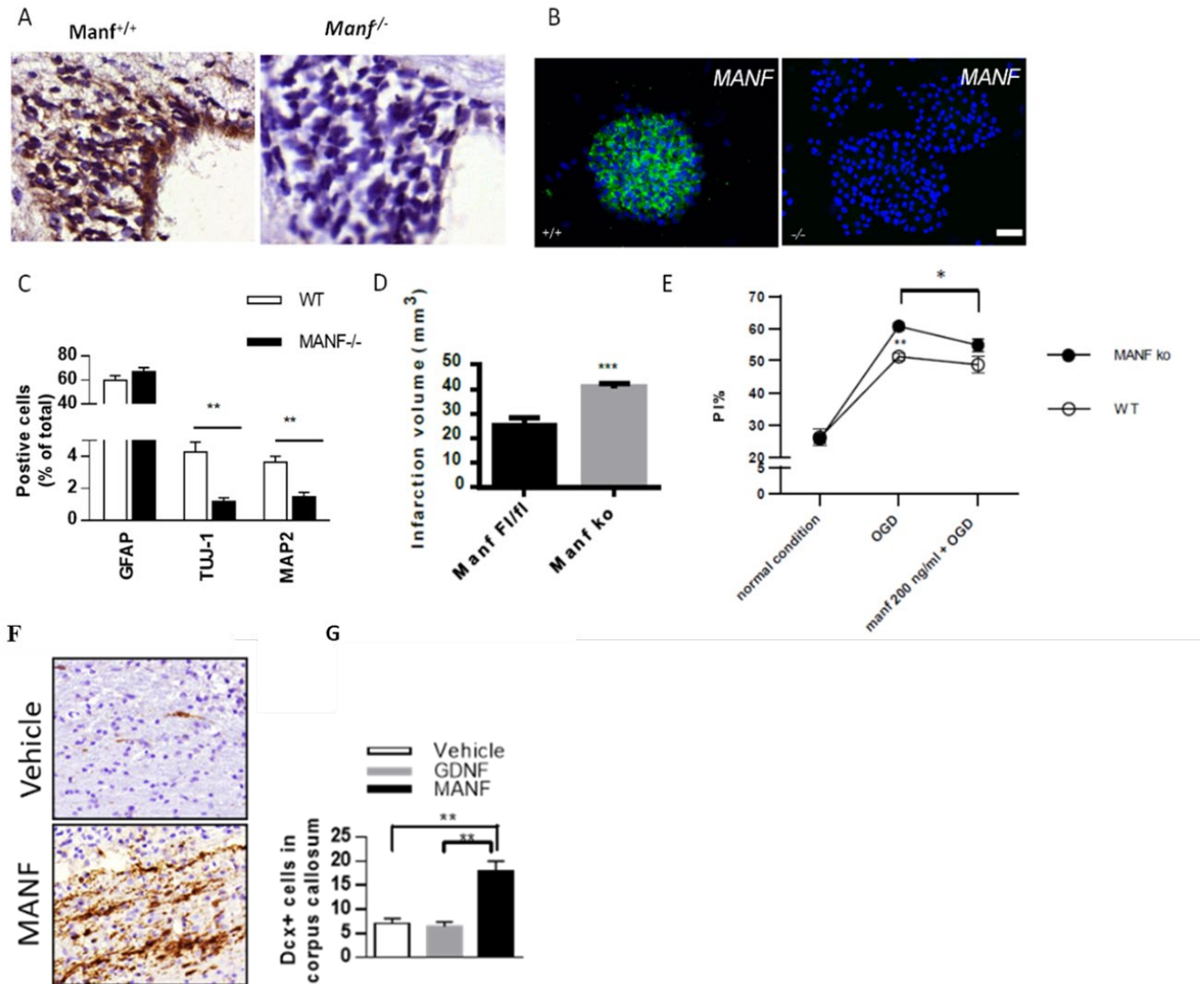


圖2. A: MANF在野生型(MANF+ / +)小鼠腦的SVZ高度表達，但卻不在MANF KO腦(MANF- / -)，棕色= MANF免疫反應性。 B: MANF在從小鼠胚胎分離的神經球(neurosphere)中高度表達。 MANF免疫熒光顯示為綠色，藍色= Dapi。 C: 在不存在MANF的情況下，神經元分化減少。顯示的是與DAPI +細胞相關的GFAP(星形膠質細胞標記)，TUJ-1(神經元標記)和MAP2(神經元標記)的相對數目。 D: 與WT小鼠相比，大腦中動脈閉塞在有條件的MANF KO小鼠(Manf<sup>flox / flox / Nestin-Cre</sup>)中產生較大的損傷。在中風後2天用TTC(氯化三苯四唑)染色測量損傷體積，\*\*\* P < 0.001，學生t檢驗，n = 8-10。 E: 缺乏MANF的NSCs在缺氧缺糖(OGD)實驗中比WT更敏感，雙因素方差分析，P < 0.05。 MANF蛋白(200ng / ml)保護MANF KO細胞，但對WT細胞沒有影響。 PI%表示碘化丙錠(propidium iodide)染上死細胞的分數。中風後大鼠梗塞周圍區域(F)中的DCX +細胞(doublecortin-positive cells)數量(G)，n = 5 / 組。

**MANF/CDNF對於腦中風後免疫調節之功能**

此外，MANF的機制也涉及蛋白激酶C信號傳導 (protein C kinase) 和NF $\kappa$ B相關的發炎反應<sup>44-46</sup>。視網膜中MANF對神經細胞的再生能力更可能與腦內的發炎反應與小膠質細胞(microglia)的極化(polarization)有密切關係<sup>47</sup>。此外，免疫細胞表達的 fractalkine 受體 CX3CR1 也被認為是 MANF 在小鼠視網膜中的細胞保護作用的介質<sup>47</sup>。我們也發現利用基因療法持續性高表達MANF於梗塞周圍區域，可加速中風後老鼠神經學缺陷的恢復(圖3A)。特別的是，MANF的高表達會增加小膠質細胞在梗塞周圍的數量(圖3B)，而這些小膠質細胞免疫抗體分析是以Arg1(arginase 1)表現為主(圖3C)，說明MANF的高表達會驅使小膠質細胞由M1 type 轉向M2 type。而在RNA sequence 及qPCR的檢測中，MANF的治療也會增加Emr1 (F4/80) 和 complement component 3 (C3) 的基因表現(圖3D)。這結果也暗示MANF的給予會增加吞噬性免疫細胞的活性於腦中風的區域，進而加速清理中風區域所造成的傷害。

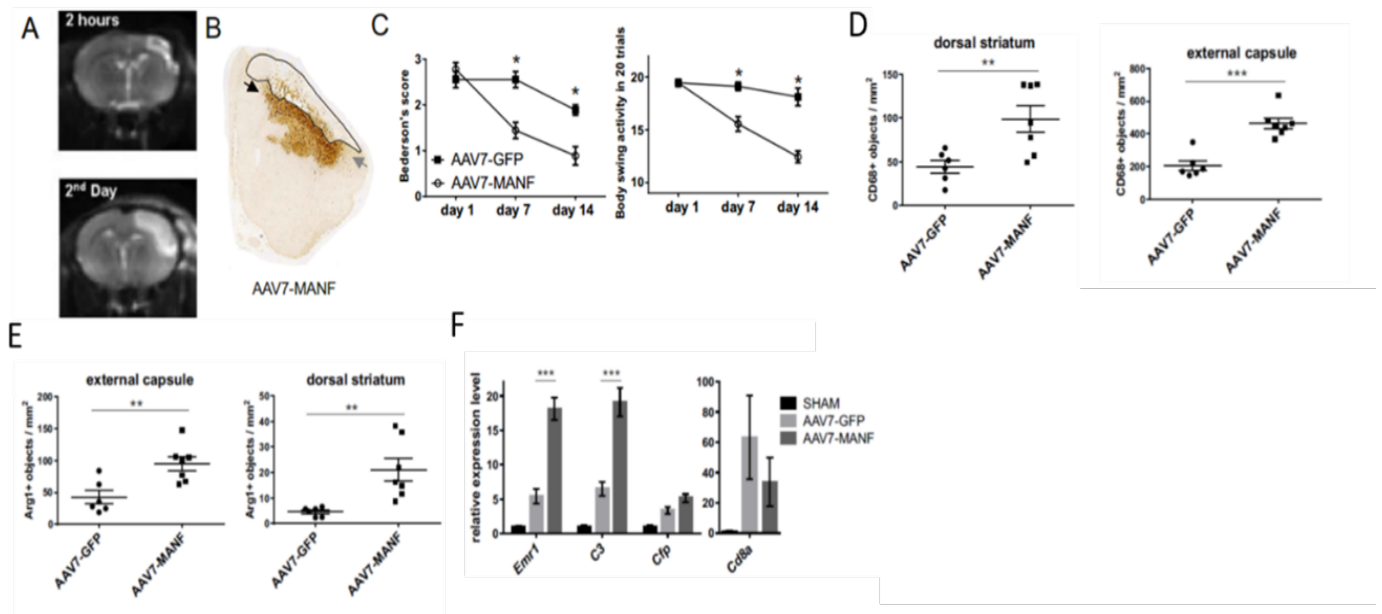


圖3. A: 使用磁共振 (MRI: T2WI) 成像在大鼠dMCAO腦中風後2小時和2天的最大異常訊號區域測量為腦損傷區。 B: 攜帶MANF基因病毒注射於腦中風後所呈現此蛋白質分布的區域 (大部分在梗塞區周圍)。 C: 藉由Bederson's神經學評分測試和偏倚揮桿 (body swing) 活動測量，腦中風兩天後AAV-MANF的治療明顯降低神經功能缺陷。D: 中風後大鼠梗塞周圍區域CD68<sup>+</sup> cells的數量。E: 中風後大鼠梗塞周圍區域Arg1<sup>+</sup>細胞的數量。

**展望**

儘管許多研究已經證明了 MANF/CDN在腦中風的動物模組中展現出多樣性的治療效果，但其中的分子作用機制仍然是一個難題。MANF/CDN可藉由加強神經恢復，及調節免疫反應，進而促進中風後的行為恢復的內生性蛋白質。作為內質網內腔駐留蛋白和維持內質網穩態所需的因子，內質網可能是主要的作用部位，但MANF/CDNF的分泌和外源性活性表明其作用機制更為複雜。雖然，內質網中 MANF 的主要目標似乎是通過 IRE1 通路與其他內質網蛋白 (例如 GRP78 和 PDI6) 合作進行 UPR 調節，但 MANF 也可以轉運到/進入線粒體 (與 CH60 相互作用) 和/或細胞質 (KCRB 和 PGAM)。目前，用於單細胞分析的新技術已日漸成熟，它們可以提供更多關於體內細胞水平功能相似性和差異的信息。或者可使用原代細胞培養物 (例如，小膠質細胞、星形膠質細胞)，神經元或是iPSCs配合分離細胞核和snRNA-seq來研究MANF/CDNF潛在的分子機制，進而更了解MANF/CDNF在腦中風後所扮演的治療角色。

## 參考資料：

1. Dirnagl, U., Iadecola, C., and Moskowitz, M.A. (1999). Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci* 22, 391-397.
2. Feigin, V.L., Norrving, B., and Mensah, G.A. (2017). Global Burden of Stroke. *Circ Res* 120, 439-448. 10.1161/CIRCRESAHA.116.308413.
3. Hsieh, F.I., and Chiou, H.Y. (2014). Stroke: morbidity, risk factors, and care in taiwan. *J Stroke* 16, 59-64. 10.5853/jos.2014.16.2.59.
4. Wang, Z., Hu, S., Sang, S., Luo, L., and Yu, C. (2017). Age-Period-Cohort Analysis of Stroke Mortality in China: Data From the Global Burden of Disease Study 2013. *Stroke* 48, 271-275. 10.1161/STROKEAHA.116.015031.
5. Kazui, S., Naritomi, H., Yamamoto, H., Sawada, T., and Yamaguchi, T. (1996). Enlargement of spontaneous intracerebral hemorrhage. Incidence and time course. *Stroke* 27, 1783-1787.
6. Qureshi, A.I., Tuhim, S., Broderick, J.P., Batjer, H.H., Hondo, H., and Hanley, D.F. (2001). Spontaneous intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med* 344, 1450-1460. 10.1056/NEJM200105103441907.
7. Chaudhari, N., Talwar, P., Parimisetty, A., Lefebvre d'Hellencourt, C., and Ravanan, P. (2014). A molecular web: endoplasmic reticulum stress, inflammation, and oxidative stress. *Front Cell Neurosci* 8, 213. 10.3389/fncel.2014.00213.
8. Hetz, C., and Mollereau, B. (2014). Disturbance of endoplasmic reticulum proteostasis in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 15, 233-249. 10.1038/nrn3689.
9. Lemus, L., and Goder, V. (2014). Regulation of Endoplasmic Reticulum-Associated Protein Degradation (ERAD) by Ubiquitin. *Cells* 3, 824-847. 10.3390/cells3030824.
10. Pintado, C., Macias, S., Dominguez-Martin, H., Castano, A., and Ruano, D. (2017). Neuroinflammation alters cellular proteostasis by producing endoplasmic reticulum stress, autophagy activation and disrupting ERAD activation. *Scientific reports* 7, 8100. 10.1038/s41598-017-08722-3.
11. Brott, T., Broderick, J., Kothari, R., Barsan, W., Tomsick, T., Sauerbeck, L., Spilker, J., Duldner, J., and Khoury, J. (1997). Early hemorrhage growth in patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke* 28, 1-5.
12. Hankey, G.J., and Hon, C. (1997). Surgery for primary intracerebral hemorrhage: is it safe and effective? A systematic review of case series and randomized trials. *Stroke* 28, 2126-2132.
13. Mendelow, A.D., Gregson, B.A., Fernandes, H.M., Murray, G.D., Teasdale, G.M., Hope, D.T., Karimi, A., Shaw, M.D., and Barer, D.H. (2005). Early surgery versus initial conservative treatment in patients with spontaneous supratentorial intracerebral haematomas in the International Surgical Trial in Intracerebral Haemorrhage (STICH): a randomised trial. *Lancet* 365, 387-397. S0140-6736(05)17826-X [pii]10.1016/S0140-6736(05)17826-X.
14. Morgenstern, L.B., Demchuk, A.M., Kim, D.H., Frankowski, R.F., and Grotta, J.C. (2001). Rebleeding leads to poor outcome in ultra-early craniotomy for intracerebral hemorrhage. *Neurology* 56, 1294-1299.
15. Apostolou, A., Shen, Y., Liang, Y., Luo, J., and Fang, S. (2008). Armet, a UPR-upregulated protein, inhibits cell proliferation and ER stress-induced cell death. *Exp Cell Res* 314, 2454-2467. 10.1016/j.yexcr.2008.05.001.
16. Lindholm, P., Peranen, J., Andressoo, J.O., Kalkkinen, N., Kokaia, Z., Lindvall, O., Timmusk, T., and Saarma, M. (2008). MANF is widely expressed in mammalian tissues and differently regulated after ischemic and epileptic insults in rodent brain. *Mol Cell Neurosci* 39, 356-371. 10.1016/j.mcn.2008.07.016.
17. Henderson, M.J., Richie, C.T., Airavaara, M., Wang, Y., and Harvey, B.K. (2013). Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) secretion and cell surface binding are modulated by

- KDEL receptors. *J Biol Chem* 288, 4209-4225. 10.1074/jbc.M112.400648.
18. Mizobuchi, N., Hoseki, J., Kubota, H., Toyokuni, S., Nozaki, J., Naitoh, M., Koizumi, A., and Nagata, K. (2007). ARMET is a soluble ER protein induced by the unfolded protein response via ERSE-II element. *Cell Struct Funct* 32, 41-50.
  19. Matlik, K., Yu, L.Y., Eesmaa, A., Hellman, M., Lindholm, P., Peranen, J., Galli, E., Anttila, J., Saarma, M., Permi, P., Airavaara, M., et al. (2015). Role of two sequence motifs of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor in its survival-promoting activity. *Cell Death Dis* 6, e2032. 10.1038/cddis.2015.371.
  20. Tadimalla, A., Belmont, P.J., Thuerlauf, D.J., Glassy, M.S., Martindale, J.J., Gude, N., Sussman, M.A., and Glembotski, C.C. (2008). Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is an ischemia-inducible secreted endoplasmic reticulum stress response protein in the heart. *Circ Res* 103, 1249-1258. 10.1161/CIRCRESAHA.108.180679.
  21. Pakarinen, E., Lindholm, P., Saarma, M., and Lindahl, M. (2022). CDFN and MANF regulate ER stress in a tissue-specific manner. *Cellular and Molecular Life Sciences* 79. 10.1007/s00018-022-04157-w.
  22. Voutilainen, M.H., Back, S., Porsti, E., Toppinen, L., Lindgren, L., Lindholm, P., Peranen, J., Saarma, M., and Tuominen, R.K. (2009). Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is neurorestorative in rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 29, 9651-9659. 10.1523/JNEUROSCI.0833-09.2009.
  23. Voutilainen, M.H., Back, S., Peranen, J., Lindholm, P., Raasmaja, A., Mannisto, P.T., Saarma, M., and Tuominen, R.K. (2011). Chronic infusion of CDFN prevents 6-OHDA-induced deficits in a rat model of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 228, 99-108. 10.1016/j.expneurol.2010.12.013.
  24. Airavaara, M., Harvey, B.K., Voutilainen, M.H., Shen, H., Chou, J., Lindholm, P., Lindahl, M., Tuominen, R.K., Saarma, M., Hoffer, B., and Wang, Y. (2012). CDFN protects the nigrostriatal dopamine system and promotes recovery after MPTP treatment in mice. *Cell Transplant* 21, 1213-1223. 10.3727/096368911X600948.
  25. Airavaara, M., Shen, H., Kuo, C.C., Peranen, J., Saarma, M., Hoffer, B., and Wang, Y. (2009). Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor reduces ischemic brain injury and promotes behavioral recovery in rats. *J Comp Neurol* 515, 116-124. 10.1002/cne.22039.
  26. Airavaara, M., Chiocco, M.J., Howard, D.B., Zuchowski, K.L., Peranen, J., Liu, C., Fang, S., Hoffer, B.J., Wang, Y., and Harvey, B.K. (2010). Widespread cortical expression of MANF by AAV serotype 7: localization and protection against ischemic brain injury. *Exp Neurol* 225, 104-113. 10.1016/j.expneurol.2010.05.020.
  27. Palgi, M., Lindstrom, R., Peranen, J., Piepponen, T.P., Saarma, M., and Heino, T.I. (2009). Evidence that DmMANF is an invertebrate neurotrophic factor supporting dopaminergic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106, 2429-2434. 10.1073/pnas.0810996106.
  28. Lindahl, M., Danilova, T., Palm, E., Lindholm, P., Voikar, V., Hakonen, E., Ustinov, J., Andressoo, J.O., Harvey, B.K., Otonkoski, T., Rossi, J., et al. (2014). MANF is indispensable for the proliferation and survival of pancreatic beta cells. *Cell Rep* 7, 366-375. 10.1016/j.celrep.2014.03.023.
  29. Matlik, K., Anttila, J.E., Kuan-Yin, T., Smolander, O.P., Pakarinen, E., Lehtonen, L., Abo-Ramadan, U., Lindholm, P., Zheng, C., Harvey, B., Arumae, U., et al. (2018). Poststroke delivery of MANF promotes functional recovery in rats. *Sci Adv* 4, eaap8957. 10.1126/sciadv.aap8957.
  30. Ellgaard, L., and Helenius, A. (2003). Quality control in the endoplasmic reticulum. *Nature reviews. Molecular cell biology* 4, 181-191. 10.1038/nrm1052.
  31. Bertolotti, A., Zhang, Y., Hendershot, L.M., Harding, H.P., and Ron, D. (2000). Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol* 2, 326-332. 10.1038/35014014.
  32. Zhou, J., Liu, C.Y., Back, S.H., Clark, R.L., Peisach, D., Xu, Z., and Kaufman, R.J. (2006). The crystal structure of human IRE1 luminal domain reveals a conserved dimerization interface required for activation of the unfolded protein response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*

- United States of America *103*, 14343-14348. 10.1073/pnas.0606480103.
33. Walter, P., and Ron, D. (2011). The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science* *334*, 1081-1086. 10.1126/science.1209038.
  34. Liu, J., Zhou, C., Tao, X., Feng, L., Wang, X., Chen, L., Li, C., Huang, D., Fang, S., and Shen, Y. (2015). ER stress-inducible protein MANF selectively expresses in human spleen. *Hum Immunol* *76*, 823-830. 10.1016/j.humimm.2015.09.043.
  35. Lee, A.H., Iwakoshi, N.N., and Glimcher, L.H. (2003). XBP-1 regulates a subset of endoplasmic reticulum resident chaperone genes in the unfolded protein response. *Mol Cell Biol* *23*, 7448-7459.
  36. Asakura, T., Ogura, K., and Goshima, Y. (2015). IRE-1/XBP-1 pathway of the unfolded protein response is required for properly localizing neuronal UNC-6/Netrin for axon guidance in *C. elegans*. *Genes Cells* *20*, 153-159. 10.1111/gtc.12206.
  37. Oh-Hashi, K., Tanaka, K., Koga, H., Hirata, Y., and Kiuchi, K. (2012). Intracellular trafficking and secretion of mouse mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor. *Mol Cell Biochem* *363*, 35-41. 10.1007/s11010-011-1155-0.
  38. Lindahl, M., Saarma, M., and Lindholm, P. (2017). Unconventional neurotrophic factors CDNF and MANF: Structure, physiological functions and therapeutic potential. *Neurobiol Dis* *97*, 90-102. 10.1016/j.nbd.2016.07.009.
  39. Hellman, M., Arumae, U., Yu, L.Y., Lindholm, P., Peranen, J., Saarma, M., and Permi, P. (2011). Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) has a unique mechanism to rescue apoptotic neurons. *J Biol Chem* *286*, 2675-2680. 10.1074/jbc.M110.146738.
  40. Kim, Y., Park, S.J., and Chen, Y.M. (2017). Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF), a new player in endoplasmic reticulum diseases: structure, biology, and therapeutic roles. *Transl Res* *188*, 1-9. 10.1016/j.trsl.2017.06.010.
  41. Tseng, K.Y., Danilova, T., Domanskyi, A., Saarma, M., Lindahl, M., and Airavaara, M. (2017). MANF Is Essential for Neurite Extension and Neuronal Migration in the Developing Cortex. *eNeuro* *4*. 10.1523/ENEURO.0214-17.2017.
  42. Tseng, K.Y., Anttila, J.E., Khodosevich, K., Tuominen, R.K., Lindahl, M., Domanskyi, A., and Airavaara, M. (2018). MANF Promotes Differentiation and Migration of Neural Progenitor Cells with Potential Neural Regenerative Effects in Stroke. *Mol Ther* *26*, 238-255. 10.1016/j.ymthe.2017.09.019.
  43. Zhang, G.L., Wang, L.H., Liu, X.Y., Zhang, Y.X., Hu, M.Y., Liu, L., Fang, Y.Y., Mu, Y., Zhao, Y., Huang, S.H., Liu, T., et al. (2018). Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor (CDNF) Has Neuroprotective Effects against Cerebral Ischemia That May Occur through the Endoplasmic Reticulum Stress Pathway. *Int J Mol Sci* *19*. 10.3390/ijms19071905.
  44. Yang, S., Huang, S., Gaertig, M.A., Li, X.J., and Li, S. (2014). Age-dependent decrease in chaperone activity impairs MANF expression, leading to Purkinje cell degeneration in inducible SCA17 mice. *Neuron* *81*, 349-365. 10.1016/j.neuron.2013.12.002.
  45. Gao, F.J., Wu, J.H., Li, T.T., Du, S.S., and Wu, Q. (2017). Identification of Mesencephalic Astrocyte-Derived Neurotrophic Factor as a Novel Neuroprotective Factor for Retinal Ganglion Cells. *Front Mol Neurosci* *10*, 76. 10.3389/fnmol.2017.00076.
  46. Chen, L., Feng, L., Wang, X., Du, J., Chen, Y., Yang, W., Zhou, C., Cheng, L., Shen, Y., Fang, S., Li, J., et al. (2015). Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is involved in inflammation by negatively regulating the NF-kappaB pathway. *Sci Rep* *5*, 8133. 10.1038/srep08133.
  47. Neves, J., Zhu, J., Sousa-Victor, P., Konjikusic, M., Riley, R., Chew, S., Qi, Y., Jasper, H., and Lamba, D.A. (2016). Immune modulation by MANF promotes tissue repair and regenerative success in the retina. *Science* *353*, aaf3646. 10.1126/science.aaf3646.

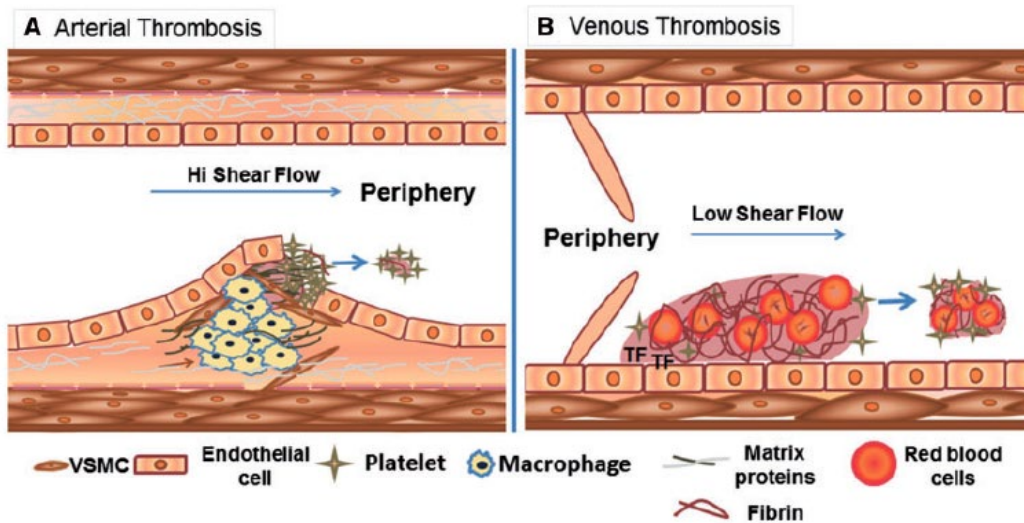


## 【藥物新知】

## 直接口服抗凝劑用於治療腦靜脈血栓

三軍總醫院臨床藥學部 王筱萍 藥師

血栓 (thrombus) 俗稱血凝塊 (blood clot)，是止血 (hemostasis) 過程中血液凝固步驟的最終產物。血栓是由 aggregated platelets、red blood cells、cross-linked fibrin protein 等成分所構成。血栓是為了阻止進一步出血傷害的正常反應，但血栓形成 (thrombosis) 時可能是有害的，因為這些形成的凝塊會阻礙循環系統中的健康血管之血液流動。血栓形成可分為動脈血栓與靜脈血栓兩大類，靜脈血栓形成 (venous thrombosis) 會導致身體受影響部位出現 blood clot，而動脈血栓形成 (arterial thrombosis) 則會影響血液供應並導致該動脈供應的組織受損（導致缺血和壞死）。兩者形成的機轉略有不同，靜脈血栓形成主要由 venous stasis 和 hypercoagulable states 所導致，但內皮損傷和激活程度較輕。靜脈血栓的主成分主要為紅血球、纖維蛋白及活化的血小板，常出現於血流滯留的地方，尤其好發於下肢靜脈。而動脈血栓之形成是在動脈粥樣硬化（血管壁中富含脂肪的沉積物）破裂後所形成，因此被稱為動脈粥樣硬化血栓形成 (atherothrombosis)。血栓成分主要為血小板、纖維蛋白、變性白血球和少量紅血球，它們共同形成網狀結構而疊附於受傷的動脈壁上，常發生於血流較快處，當凝塊隨後向下游遷移並可能影響任何器官時，便可能導致組織細胞缺血或梗塞（如圖一）[1-3]。



圖一：動脈和靜脈血栓形成的主要區別（剪裁自原圖一）[3]。(A) 當破裂的動脈粥樣硬化斑塊和受損的內皮周圍形成富含血小板的血栓時，在 high shear flow 下會發生動脈血栓形成。(B) 靜脈血栓形成發生在 low shear flow 下，主要圍繞完整的內皮壁。靜脈血栓富含纖維蛋白，除了活化的血小板外，還包裹著大量的紅細胞。

淺靜脈血栓形成會引起不適，但通常不會造成嚴重後果，就像在腿部深靜脈或盆腔靜脈中形成的深靜脈血栓形成 (deep vein thromboses, DVT) 一樣。但若血栓滯留在肺部的話，會導致肺栓塞 (pulmonary embolism, PE)；肺栓塞是一種非常嚴重的疾病，如血栓太大可能有致命性風險。腦部靜脈血栓 (cerebral venous thrombosis, CVT) 一樣被歸類於靜脈血栓，也是一種少見但嚴重的腦中風，通常影響年輕族群。近期發現部分病人在接種 coronavirus disease 2019 (Covid-19) vaccines 後有此不良反應產生，引起大眾的關注。目前可能引起 CVT 的機轉與腦靜脈或硬腦膜竇 (dural sinus) 血栓形成有關，血栓會阻礙腦組織血液引流，導致腦實質病變（如中風）或功能障礙，並導致靜脈和毛細血管壓力升高，破壞血腦障壁，或硬腦膜竇阻塞導致腦脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 吸收減少，造成顱

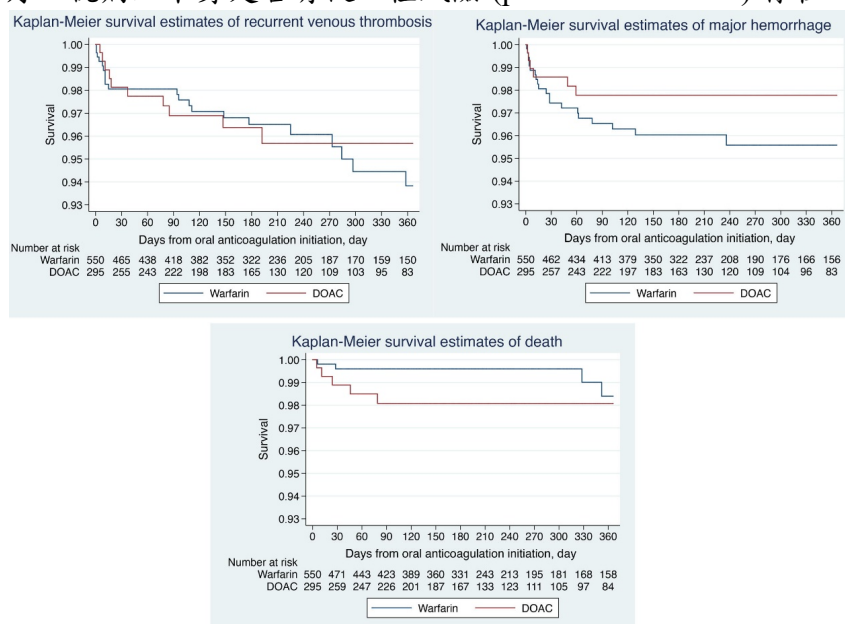
內壓升高。臨床表徵包括頭痛、視力喪失、局部或全身性癲癇發作、意識模糊和昏迷等。CVT 與遺傳易血栓形成，懷孕、感染和惡性腫瘤有關。當腦靜脈血栓確診後，應立即給予抗凝血劑 (anticoagulants) 治療 [4-6]。

CVT 治療以疏通阻塞的硬腦膜竇／靜脈、防止血栓擴散，預防身體其他部位靜脈血栓形成（特別是肺栓塞）以及預防 CVT 復發等策略為主。

急性期治療以使用 antithrombotic treatment 為主，若病人無禁忌症可使用皮下注射 LMWH (low molecular weight heparin) 或靜脈注射 heparin。文獻指出皮下注射 LMWH 比 unfractionated heparin (UFH) 更有效，並且至少具有同樣安全性。因此，目前在臨床上較常使用皮下注射 LMWH 的方式來做為急性期之治療，除非患者存在使用 LMWH 的禁忌症，例如腎功能衰竭才會改以 heparin 治療 [7]。

在急性期後，持續使用抗凝血劑是為了防止 CVT 復發，復發風險約 2% 至 4%，CVT 後其他部位靜脈栓塞發作風險為 4% 至 7%。對大多數患者而言，急性期後抗凝血劑的使用以 warfarin 或直接口服抗凝劑 (direct oral anticoagulants, DOACs) 為主。與 warfarin 相比，DOACs 因不需頻繁進行血液監測、劑量調整且藥物交互作用較少、沒有飲食限制，因此可能更適合大多數患者使用。關於 DOACs，尤其是 Xa 因子抑制劑的使用結果數據有限。在 RE-SPECT CVT 試驗結果發佈之前（計畫名稱：A Clinical Trial Comparing Efficacy and Safety of Dabigatran Etexilate With Warfarin in Patients With Cerebral Venous and Dural Sinus Thrombosis）[8]，歐洲不建議使用 DOACs 預防 CVT 後靜脈血栓復發，然而，RE-SPECT 試驗結果亦不足以顯示 DOACs 的有效性與安全性與 warfarin 有差異，在當時，對於預防 CVT 患者血栓復發，仍無法確定 DOACs 比 warfarin 安全且有效。該研究以隨機分組進行實驗，將患者分成 DOACs 與 warfarin 兩組，納入 120 名 CVT 患者，平均年齡為 45.2 歲。追蹤 23 週後，均未觀察到復發性 venous thrombotic events (VTEs)。但在其他指標，例如大出血、任何出血種類、intracranial hemorrhage 等等，DOACs 與 warfarin 兩組並未具有明顯之差異。

直到 2022 年，一項於多國、多中心進行的回溯性 (Anticoagulation in the Treatment of Cerebral Venous Thrombosis, ACTION-CVT) 研究發佈 [9]，此研究納入 845 名 CVT 患者，平均年齡 44.8 歲。這些患者接受了 warfarin (52%)、DOACs (33%，主要是 apixaban) 或在不同時間接受過 warfarin 及 DOACs (15%) 進行抗凝血治療，在大約一年時間，病人的死亡和復發性血栓的結果相似（圖二）。然而，使用 DOAC 與大出血風險降低相關（調整後的風險比為 0.35，95% CI 0.15-0.82），結果顯示在預防 CVT 血栓復發上，DOAC 是較合理替代治療選擇。抗凝血劑合理治療時間尚未明確，但目前建議使用 3 至 12 個月，視病人本身是否有促血栓風險 (prothrombotic risk) 存在而調整。



圖二：追蹤一年之 Kaplan Meier survival analysis 結果（剪裁自原圖二）[9]。

追蹤一年之復發性靜脈血栓形成（左）、大出血（右）和死亡（下）等副作用之存活分析。大約一年時間，病人的復發性血栓的死亡的結果相似。然而，使用 DOAC 較無出現大出血之風險。DOAC 即為 direct oral anticoagulants。

綜整上述，在預防 CVT 血栓復發上，DOAC 是較合理替代治療選擇，可以有效降低日後產生大出血的風險。此外，DOAC 不用像 warfarin 需要監測藥物血中濃度，這也是使用 DOAC 之優勢。但是，DOAC 通常價格較為昂貴，可能也需要進一步的研究來評估其成本效益。目前有幾個大型前瞻性觀察研究正在進行中（DOAC-CVT study: Direct Oral Anticoagulants in the Treatment of Cerebral Venous Thrombosis [NCT04660747]；SECRET: Study of Rivaroxaban for Cerebral Venous Thrombosis [NCT03178864]），或許等待這些研究結果出爐後，我們能更清楚是否 DOAC 的確具有較好的治療或保護效果。

#### 參考資料：

- 1 Martinelli I, Bucciarelli P, Mannucci PM. Thrombotic risk factors: basic pathophysiology. *Crit Care Med.* 2010;38(2 Suppl):S3-9.
- 2 Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med.* 2008;359(9):938-49.
- 3 Koupenova M, Kehrel BE, Corkrey HA, Freedman JE. Thrombosis and platelets: an update. *Eur Heart J.* 2017;38(11):785-91.
- 4 National Clinical Guideline Centre for A, Chronic C, National Institute for H, Clinical E. Venous thromboembolism : reducing the risk of venous thromboembolism (deep vein thrombosis and pulmonary embolism) in patients admitted to hospital. National Clinical Guideline Centre--Acute and Chronic Conditions: London; 2010.
- 5 Ropper AH, Klein JP. Cerebral Venous Thrombosis. *N Engl J Med.* 2021;385(1):59-64.
- 6 Coutinho JM. Cerebral venous thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2015;13 Suppl 1:S238-44.
- 7 Ferro JM, Aguiar de Sousa D. Cerebral Venous Thrombosis: an Update. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2019;19(10):74.
- 8 Ferro JM, Coutinho JM, Dentali F, Kobayashi A, Alasheev A, Canhao P, et al. Safety and Efficacy of Dabigatran Etexilate vs Dose-Adjusted Warfarin in Patients With Cerebral Venous Thrombosis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol.* 2019;76(12):1457-65.
- 9 Yaghi S, Shu L, Bakradze E, Salehi Omran S, Giles JA, Amar JY, et al. Direct Oral Anticoagulants Versus Warfarin in the Treatment of Cerebral Venous Thrombosis (ACTION-CVT): A Multicenter International Study. *Stroke.* 2022;53(3):728-38.

**【新人介紹】**

國防醫學院藥理學科暨藥理學研究所 洪浩淵助理教授

**學歷：**

國防醫學院醫學科學研究所 博士  
國防醫學院藥理學研究所 碩士  
國防醫學院藥學系 學士

**經歷：**

國防醫學院藥理學科講師  
三軍總醫院臨床藥學部臨床藥師  
三軍總醫院臨床藥學部藥師  
空軍作戰指揮部藥事督導官

**主要研究領域：**

1. Biomarkers and treatments of alcohol use disorder
2. The potential targets for pain regulation and pain therapy
3. Potential roles of exosomes in Parkinson's disease

**【學術會議、演講與活動】**

1. 2023年2-7 July，全球藥理學和治療學界將聯合在蘇格蘭格拉斯哥參加世界基礎和臨床藥理學大會(WCP2023) – 誠摯邀請會員參加。  
Abstract submission deadline: 4 November 2022  
Early bird deadline: 17 March 2023  
詳情請見會議網址: <https://wcp2023.org/>
2. 臺灣粒線體醫學暨研究學會 TSMRM 2022 年會-延長投稿期限  
TSMRM 2022學術研討會暨年會 將於2022/10/15假佛光山佛光樓國際會議廳舉行。  
最新消息: 延長報名及收稿至10/07 (紙本手冊至9/22) 2022學術研討會暨年會 壁報摘要延長收稿至10/9; 會議連結: <https://forms.gle/r4DBqYAhkoueroC47>
3. 第14屆國際細胞生物學聯合會暨第九屆亞太細胞生物學組織-聯合會 (2022 ICCB & APOCB)  
國際細胞生物學聯合會和亞太細胞生物學組織，為促進世界各國細胞生物學和細胞生物學學會的研究，匯集全球最新進展，特別是關注細胞和分子生物學的特殊功能，邀請來自世界各地的知名演講者，於11/11/07-11/11/11假中央研究院人文社會科學館舉辦2022 ICCB & APOCB大會。  
報名時間: 即日起至11/09/30(早鳥報名)  
                  即日起至11/10/24(一般報名)  
會議網址: <https://2022iccb-apocb.cscmb.org.tw/>
4. 第十屆亞洲自由基學會研討會 (10th Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research-Asia) (<http://www.sfrr2022.co.kr>) 訂於2022/11/4-2022/11/6召開，研討會地點為韓國首爾。

**【徵才公告】**

國家衛生研究院生技與藥物研究所公開遴選所長，有興趣的申請人請提交完整的簡歷、研究專長、管理經驗、簡短的研究所發展願景或計劃（一頁或兩頁）及三封推薦信，於2022年10月1日前寄至聯絡人：Joyce Hsu信箱: [joyce@nhri.edu.tw](mailto:joyce@nhri.edu.tw)

【第十一屆藥理簡訊編輯委員】(依照姓名筆劃排序)

王湘翠 (陽明) 吳文彬 (輔大) 吳宗圃 (長庚) 吳青錫 (台大) 吳炳男 (高醫)  
洪浩淵 (國防) 陳炳焜 (成大) 陳俊翰 (北醫) 賴志嘉 (慈濟) 謝文聰 (中國醫)  
關宇翔 (中山) 鍾鏡湖 (馬偕)  
召集人 林泰元 (台大)

\*\*\*\*\*

台灣藥理學會 The Pharmacological Society in Taiwan

理事長: 林琬琬 教授

秘書長: 林泰元 副教授

秘書處聯絡人: 黃婷茵

電話: 0966-528529 ; 02-23123456 轉 288324

Line ID: [tpharmacol](https://www.line.me/tv/pharmacol); 傳真: 02-23915297

學會會址: 10051 台北市中正區仁愛路一段1號11樓

聯絡地址: 10051 台北市中正區仁愛路一段1號11樓

電子信箱: [tpharmacol@gmail.com](mailto:tpharmacol@gmail.com)

學會網址: <http://www.pharmacology.org.tw/>

\*\*\*\*\*