

第一章 前言

補陽還五湯(Buyang Huanwu Decoction) [19] 証明對周圍神經斷傷(neurotmesis)有明顯之療效，補陽還五湯來自清朝王清任《醫林改錯》，其方劑名稱緣自人有陽氣十分，中風造成偏枯而失去五分陽氣，故用此方來治療，中醫臨床用來治療中風病患者有其一定之療效，其主要成分為黃耆。故本實驗即以矽膠管內填黃耆皂? (astragaloside)，來評估其對周圍神經生長之療效。

神經斷傷在近二十年來，已研究出許多可行的治療方式，在中樞神經而言，目前突破較難，因為神經元(neuron)死亡以目前醫療無法使其再生，幹細胞(stem cell)之培養是未來之曙光，但目前仍有瓶頸；周圍神經之修復，目前已有許多研究證實其療效，目前研究的重點在於何種方法，可以讓神經的再生(regeneration)與修復(repair)更為完好。本實驗以周圍神經為題材，來研究神經斷裂後的間隙，影響了神經的再生與預後之治療模式。

周圍神經斷裂時，神經斷裂的間隙距離是在選用何種神經接合術時的最重要考慮因素。就目前而言，神經因外傷或其他原因造成截斷後有以下四種修補技術：

斷端縫合術(end-to-end suturing)

神經束縫合術(fascicular suturing)

神經移植術(nerve grafting)

神經管接合術(nerve bridging)

以前二種技術而言，僅適用於斷裂長度少於數毫米的神經。而斷裂間距較長的神經，如其間距大於 10 mm 甚至 15 mm 以上時，直接縫合因神經縫合後，張力過大造成神經受傷處處於不佳環境，此時後二者即為治療之選擇；就使用自體神經移植手術而言，好處在於臨床上有良好的癒合率，且適用於較長的神經間距，也避免了免疫排斥反應。但此種方法最大的缺點，就是神經移植段的取得來源十分困難且有

限，同時在取得神經移植段會導致其他部位功能的損壞；所以周圍神經斷裂間隙較大時，神經管接合術應可考慮施行。

神經管接合術：是將神經兩斷端縫合於一圓管的兩側，利用圓管導引並支持神經纖維成長再生。有許多不同的生物材料用來製作神經管^[27.28.29]，矽膠管(silicone tube)就是其中之一。矽膠製神經管具有高生物適應性(biocompatibility)、透明及高柔軟度等優點，常用於神經再生與修復的研究^[30]。除此之外，神經管內添加神經再生的物質，使管中的神經再生加速，跨過間距完成再生。使用神經再生刺激物質有：神經生長因子(nerve growth factor, NGF)，及膠原蛋白(collagen)，laminin and fibronectin 等細胞外基質(extra-cellular matrix)的混合物等等^[31,32]。

依文獻回顧，黃耆之於神經再生似無直接証據，其對免疫力提升及心血管功能有確定之療效，本實驗會以黃耆為材料除了以本篇最前面之證據外，推測可於免疫中本藥對巨嗜細胞之作用，對非神經組織之許旺細胞反應，以神經再生過程之 Wallerian degeneration 而言，巨嗜細胞(macrophage)扮演角色在此，先退化(pre-degeneration)即神經生長之第一過程，巨嗜細胞即作用於此。巨嗜細胞會引發生長因子及 cytokine 引起細胞內訊息傳遞，而對神經再生有所助益。

實驗目的

一、觀察黃耆皂? (astragaloside)是否能促進周圍神經再生的作用。於接管後兩個月後，打開切口，以觀察來紀錄，如果有生長則以肌電圖檢查，並以 HRP(Horseradish Peroxidase)於截斷坐骨神經之遠端注入，來偵測是否能於脊髓染色。

二、HRP 注射後兩天取標本，組織切片於 image pro 軟體來計算軸突，血管截面積，觀察 Schwann cell。並取大鼠脊髓 (T12-L1)計算 HRP 染色來做定量之分析。切下兩側 gastronemius muscle 于以測量其重量，並做組織切片。

第二章 文獻探討

2.1 神經系統(nerve system)

神經系統是動物體內訊息傳遞網路(communication network),使動物體內協調功能與環境互動有良好的機制^[37],它調節著身體全部的生理功能,身體除了看得到感覺得到有形之動作,感官之接收,情感之表達外;無形之表現如思想之形成,甚至高等動物之人類有文化、藝術、學術之形成而故具有高度的複雜性,這都需神經系統。

電腦模仿動物神經系統,如以有功能作用之電腦為一個有機體而言,訊息之連接即是神經系統,如沒有此連絡系統,就沒有功能,好比只有滑鼠、螢幕、鍵盤、掃瞄器,如無電腦主機及軟體,其周邊設備形同廢物。如神經系統的功能有感覺、偵測〔和滑鼠、鍵盤、掃瞄器連接之線路周圍神經系統〕、資訊處理〔CPU, soft ware 中樞神經系統〕和行為〔螢幕輸出如同運動神經之控制肌肉關節〕。另外神經系統可執行獨特的功能,諸如學習、記憶、意識、合理性、語言、以及投射心理的自我形象的能力等等。神經系統處理外在與內在環境的資訊,是以三個基本要素來達成:1. 感覺要素可以偵測環境因子;2. 整合要素可以處理資料並將資訊記憶著;3. 運動要素造可產生運動或是其他活動。

與神經系統相比,有相似對全身作用之內分泌系統,同樣可以調整與維持身體的平衡。不同處為,神經系統遠較內分泌系統作用快速。神經系統藉電訊號傳遞,特性是快速的、特定的、立即的。相對而言,內分泌系統經由激素產生,經由血液系統作用在標的器官,速度較緩慢,但作用比較持久^[37,39]。

神經系統由細胞高度複雜地結構聚集而成,除了神經組織本身外,顱骨、脊椎骨、腦膜與血管也扮演重要角色,其作用如同電腦線路之供電及外殼,提供能量〔營養〕及保護〔如堅硬之顱骨〕;而神經組織內,主要由三種基本的細胞型態之類型所組成:1. 神經元

(neuron)、2. 神經膠細胞(neuroglia)與 3. Schwann 細胞(Schwann cell)。有些部份細胞形成訊息傳遞網路，有些部份形成支持結構。神經元內容會於後詳述〔a.3〕。神經系統的支持細胞為神經膠細胞和 Schwann 細胞，這些細胞穿插於神經元間的空間，調節神經元的功能並且維持環境的穩定，傳輸信號品質之維持，使神經線路不短路有絕緣作用，關係到神經細胞的營養和防禦措施，或是包覆軸突使神經衝動的傳導更為快速。另外，腦膜包覆著腦與脊髓，神經解剖上可借著腦膜的分布分為二大部分。

2.1.1 中樞神經系統(central nervous system, CNS)

粗略來分腦膜硬脊膜包覆著中樞神經，藉此與周圍神經系統(peripheral nervous system, PNS)區隔開，但是脊椎骨中之馬尾神經叢例外。中樞神經系統包含腦與脊髓，腦再細分：大腦半球、基底核、視丘、中腦、間腦、橋腦、小腦與延髓等部分。腦是控制身體之中心，可儲存、計算、整合以及傳送訊息。人腦內大約有一百億個神經元，每個神經元與其他附近神經元有上千個連接。中樞神經系統神經細胞體聚集成核(nuclei)，神經軸突則集成束狀的徑(track)。神經膠細胞是中樞神經的支持細胞，它不會在周圍神經系統出現。神經膠細胞主要有四種型式：星狀細胞(astrocyte)、寡樹突細胞(oligodendrocyte)、微膠細胞(microglia)以及室管膜細胞(ependymal cell)。神經膠細胞的數量約為神經元的十倍^[37-40]。

2.1.2 周圍神經系統

周圍神經系統也包含自律神經系統(autonomic nerve system, ANS)，其為中樞神經系統在身體內在和外環境間的介面。中樞與周圍兩個系統在功能上的分界點在寡樹突細胞與 Schwann 細胞的交接處。周圍神經系統中，神經細胞體聚集的結構稱為神經節(ganglia)；位於神經節的神經元的軸突與來自中樞神經系統，神經元的軸突形成周圍神經。依據周圍神經與中樞神經系統的相關部位，可將它分為顱神經〔第一及第二對腦神經例外〕與脊髓神經。Schwann 細胞就是周圍

神經系統的支持細胞，周圍神經的支持細胞僅此一種，並且不會在中樞神經系統內出現^[26]。周圍神經系統主要有二個機能，第一、感覺機能：由感覺接受器與輸入(感覺)神經元構成；第二、運動機能：由輸出(運動)神經控制肌肉或腺體活動，運動要素包含了體運動神經纖維、自律神經節以及自律運動神經^[37-39]。

2.1.3 神經元

神經元分類

神經元分類依功能、細胞突的數目分類。

神經元依功能：感覺神經元、運動神經元、中間神經元(圖 2.1)。其功能如下：

感覺神經元(sensory neuron) 具有特化的接受器(receptors)，可將刺激轉換為神經訊號，傳遞至腦部並解讀成感覺。

運動神經元(motor neuron) 由大腦運動皮質或內臟腺體皮質區，發出命令傳出至標的，可支配肌肉或腺體產生活動。運動神經元可再分為體運動神經元與自律運動神經元。自律神經系統的神經元、脊髓前角(anterior horn cell)的神經元、顱神經核的神經元等，都屬於運動神經元。

中間神經元(interneuron) 接受、整合與傳遞資訊，中樞神經系統的神經元都屬於該類型。

依細胞突的數目分類

神經元依細胞突的數目分類可為單極神經元(unipolar neuron)或偽單極神經元(pseudounipolar neuron)，雙極神經元(bipolar neuron)，多極神經元(multipolar neuron)。

神經元的構造

神經細胞有三個構造所組成(圖 2.1)：一個細胞體(cell body, or soma)，一個或多個樹突，以及一個軸突。

細胞體 細胞合成所有神經蛋白質。樹突可合成一些蛋白質，但是軸突與軸突末端沒有核糖體(ribosome)的存在所以不能合成蛋白質。軸突與神經末端的更新需要新合成的蛋白質與細胞膜，兩者都在細胞體合成，並且在細胞體中將它們聚集成膜囊或多蛋白顆粒。這些物質沿軸

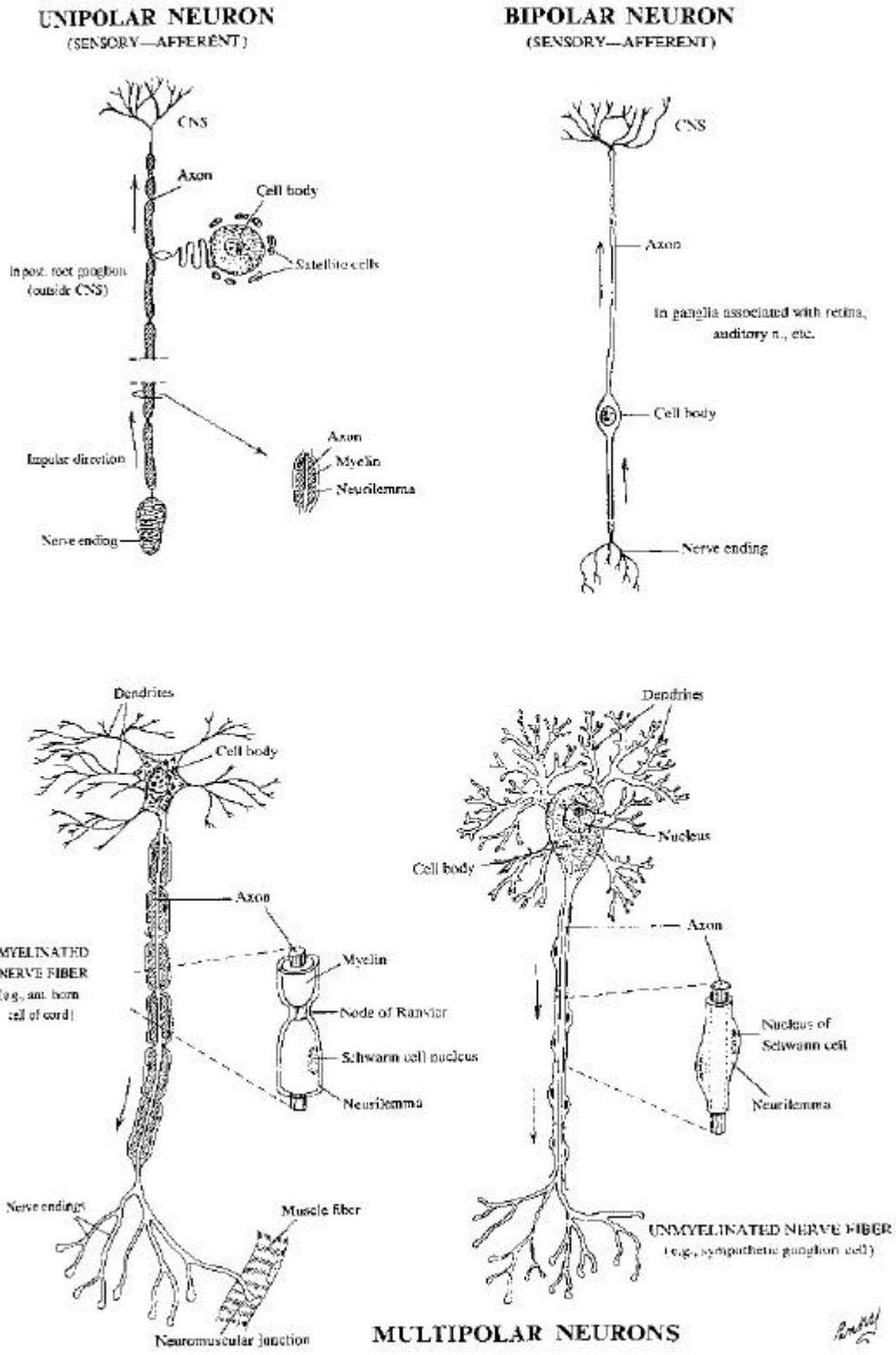


圖 2.1 神經元之類型與構造^[26]

突內的微小管順向運送到軸突末端。

細胞質內有豐富的顆粒性內質網和無顆粒內質網，此外也含有以下各種胞器和內含物：(1)Nissl 物質(Nissl substance)，(2)高基氏體(Golgi apparatus)，(3)粒腺體(mitochondria)，(4)微絲(microfilament)，(5)微小管(microtubule)，(6)溶小體(lysosome)，(7)中心粒(centriole)及褐脂質(lipofuscin)、黑色素(melanin)、肝醣及脂質。

Nissl 物質和神經損傷比較有關，散佈於整個細胞體內的物質中，不過靠近軸突附近的細胞質並無 Nissl 物質，稱為軸索阜(axon hillock)。Nissl 物質延伸到樹突的近端部分，在軸突中則不存在。

樹突(dendrite) 從細胞本體向外延伸出來的一個或多個突起，稱為神經突(neurite)。其任務負責接受訊息，並傳向神經細胞體。

軸突(axon) 把神經衝動傳離細胞體一條神經突，就是軸突。通常軸突也稱為神經纖維。神經軸突除了用傳遞電位訊息方式外，還可以藉著軸突的運輸(axon transport)方式，運送化學神經傳遞物質。

軸突末端(axon terminals) 軸突的末端成球根狀，它由前突觸膜(pre-synaptic membrane)，突觸隙(synaptic gap)和後突觸膜(post-synaptic membrane)組成。在軸突末端的細胞質中，含有許多的突觸小泡(synaptic vesicle)，在其中的物質為神經傳送物質(neurotransmitter)。它們從前突觸膜釋放而作用於後突觸膜接受器(receptor)，功能在於把信息傳過突觸。在此同時，也有電性的突觸，這些細胞是由隙接合(gap-junction)連結，它容許離子化的細胞物質通過而達到離子的傳導。

神經元的功能

神經元是神經系統的基本單位。應激性(excitability)是神經元的細胞特性，功能是訊息傳遞，神經元訊息傳遞由電的信號(electric signals)和化學訊號(chemical signals)來傳遞訊息，兩者間有極密切的關連。

電的信號 在神經元內是以細胞之去極化(depolarization)產生電的信號，處理與傳導訊息達成神經功能。包括神經衝動(nerve impulses) (或稱動作電位(actional potential)，接受器電位(receptor potential)，突觸電位(synaptic potential)。

化學信號 神經細胞間的連係以化學物質傳送 (transmit) 訊息。突觸是化學信號的作用位置，突觸電位使軸突末端的神經傳導物質釋出，接受體作用使訊息傳遞到下一個細胞。

神經元以樹突或軸突和其他神經元形成突觸，構成傳遞網互通訊息。神經的訊息是經由一個神經細胞軸突傳到下一個神經細胞之樹突。神經軸突除了傳遞訊息外，還可以借著軸突的運輸 (axon plasma flow) 運送化學物質。

感覺、整合以及運動功能，由不同的神經元運作而成。感覺神經元 (sensory neurons) 有特化的接受體，可以將不同形式之刺激，如光、聲音、觸覺、味道、嗅覺等等，轉換為電的信號。這些信號在突觸處轉為化學信號而傳遞到中間神經元。中間神經元在突觸後接受器再將化學信號轉換為電的信號，電的信號在細胞內進一步處理與傳導，之後於軸突突觸再轉換成化學信號，將訊息傳給下一個細胞。後在最後訊息傳送運動神經元、腺體神經元或者是可刺激其他神經元^[39]。

2.1.4 神經幹 (nerve trunk)

神經幹是一個混合的組織，包括運動及感覺神經，此結構是為維持神經纖維的連續性，營養神經，避免神經間短路以及保護神經纖維的基本功能。神經纖維功能維持需持續能量供應，故神經幹內有特有的微循環系統^[31,32]。

周圍神經的主要構造成份為神經纖維，神經纖維是由 Schwann 細胞包圍或形成髓鞘的軸突 (圖 2.2)。

神經纖維分類^[24]

依髓鞘有無：髓鞘化神經纖維及非髓鞘化神經纖維 一條神經包含了許多的神經纖維，神經纖維由結締組織鞘包圍聚集成神經束。髓鞘化神經纖維與非髓鞘化神經纖維混雜在神經束內。非髓鞘化神經纖維的數量較髓鞘化神經纖維多出許多。軸突的髓鞘化單一個 Schwann 細胞供給單一節段的髓鞘，由蘭氏結 (node of Ranvier) 隔開。軸突直徑與長度成正比。

依神經纖維的直徑大小、傳輸速度之快慢、髓鞘存在之有無

A 群纖維：直徑 1-20 μm ，傳輸速度每秒 5-120 公尺 { m/sec }，依直徑大小再細分為、
、
、
等纖維，它們是具髓鞘的。負責本體

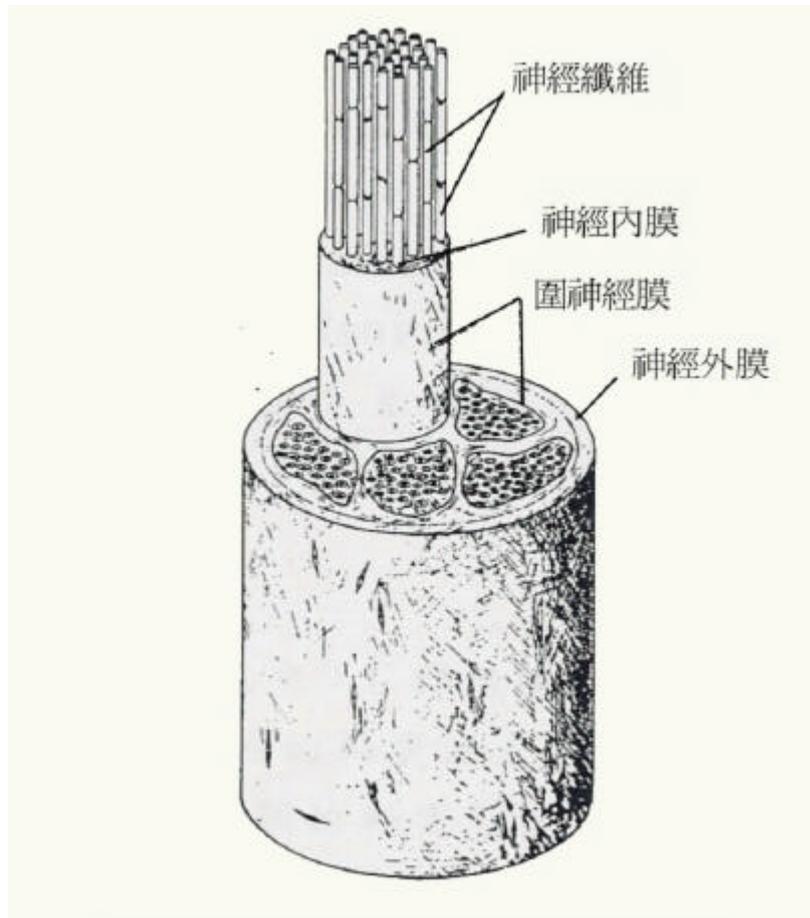


圖 2.2 神經幹包被各種不同之被膜的結構及其相關位置

覺(proprioceptive)、觸覺(fine touch)、壓覺(pressure)、溫熱覺(thermal)以及痛覺(pain)等。A 群纖維有傳入性纖維，也有傳出性纖維。

B 群纖維：直徑 1-3 μm ，傳輸速度每秒 3-15 公尺 { m/sec }。它們也是具髓鞘的。主要出現在自律神經系統中，內臟性(splanchn)的傳出纖維以及節前的傳出纖維。

C 群纖維：直徑 0.5-2 μm ，傳輸速度每秒 0.5-2 公尺 { m/sec }。它們是無髓鞘的。主要負責傳送痛覺(pain)、溫覺(thermal)，節後傳出性纖維中也有 C 群纖維。

依神經膜於神經幹分為：神經外膜，圍神經膜，神經內膜
神經幹最外層被神經外膜(epineurium)的緻密結締組織所包圍，神經纖維束(fascicle)在神經幹內，每束神經纖維又再被圍神經膜(perineurium)的結締組織鞘所包圍，在每個神經纖維之間是鬆細的結締組織再一次包被此被膜稱為神經內膜(endoneurium)，結締組織膜用來支持神經纖維和它們有關的血管及淋巴管。

2.2 周圍神經損傷

2.2.1 周圍神經損傷的原因

原因可分為物理，溫度，缺血，化學等因素，絕大多數歸因於物理性。物理性損傷機轉為擠壓(crush)，牽拉(distraction)或切斷(sever)。神經損傷其分類：有依病因，也有依據神經纖維的組織結構與依功能的改變來分類。

2.2.2 外傷性神經病變(traumatic neuropathies)

周圍神經損傷常見的致病機轉是外傷(trauma) [40,42]。

撕裂傷(avulsions)

當周圍神經因外力牽扯神經受張力增加造成，經常發生於四肢的受傷力量過大造成。

割裂傷(laceration)

周圍神經割裂傷常由銳利器具割傷、穿刺或為骨折之斷端傷及神經所致。有時直接的神經斷裂常伴隨著出血，因為神經旁常伴隨血管，造成結締組織面的橫切甚至血腫壓迫神經，神經沒有足以滋養之血液循環。割傷後之周圍神經會再生，但是其速度很慢。再生的情形會因神經近斷端與遠斷端的不連續間隙，或因神經束的錯接而變的更為複雜，因此反而阻礙神經再生，如：神經近斷端的軸突甚至在神經遠斷

端位置不正確的情況下亂長，因而形成了外傷性的神經瘤(traumatic neuroma)。

壓迫性的神經病變(compression neuropathy)

病因是周圍神經受到壓迫，常以解剖部位區隔。如腕隧道症候群(carpal tunnel syndrome)是最常見的病變，是正中神經在腕的位置受到橫腕韌帶(transverse carpal retinaculum)壓迫所引起。其他如橈神經在前臂受壓迫(Saturday night palsy)，尺神經在肘部(tardy ulnar palsy)，膕神經在膝部(eg: Baker's cyst)，股外側皮神經(lateral femoral cutaneous nerve)因鼠蹊部韌帶壓迫，等都是因壓迫造成性神經病變。其他如局部的關節損傷退化或是腫瘤，會引起慢性的壓迫損傷^[40]。

2.2.3 Sedden 分類法

1943 年 Sedden，將神經損傷的區分三個不同程度^[38, 42, 45,46,47]：

神經失用(neurapraxia)

在連續的軸突內有局部傳導阻斷的現象，而神經的應激性(excitability)仍然保存。此損傷相當於擠壓受傷後產生的急性局部去髓鞘的阻斷。傳導阻斷持續幾星期或幾個月，直到局部髓鞘修復。

軸突斷傷(axonotmesis)

軸突受傷而喪失連續性，神經內膜(endoneurium)仍然完整。發生於神經受擠壓或拉傷後，軸突的連續性破壞，使軸突的遠端會產生 Wallerian 退化(Wallerian degeneration)。神經功能恢復的時間長短取決於軸突再生時再支配(reinnervation)原來的標的組織(target tissue)的時間。軸突斷傷後，軸突如可延著原本路線的途徑再生，並且再支配原本的標的組織，所以預後良好。

神經斷傷(neurotmesis)

軸突斷傷外，加上神經幹連續性的部分或全部的喪失。神經幹的非軸突部份包括神經內膜(endoneurium)，圍神經膜(perineurium)以及神經外膜(epineurium)。神經斷傷包含了神經的斷離。神經斷傷(neurotmesis)須要手術修復。此神經功能恢復的預後不佳。

2.2.4 Sunderland 分類

Sunderland 根據神經幹不同組織受傷之程度做了更詳細的分類^[42, 48, 49]。Sunderland 將神經損傷分為五個階段。第一型與第二型相當於 Sedden 的神經失用(neurapraxia)和軸突斷傷(axonotmesis)。Sunderland 將嚴重的神經損傷加以細分，依各別結締組織的連續性與否再細分三型。第三型為軸突與神經內膜(endoneurium)的喪失但是圍神經膜(perineurium)依然完整。第三型以上會產生軸突 Wallerian 退化以及神經束的紊亂。第四型意指圍神經膜(perineurium)的連續性喪失但神經外膜(epineurium)仍完整。第五型為神經幹完全斷離。

2.2.5 周圍神經受傷後的改變

軸突斷傷後，神經會產生退行性的變化。

遠端的軸突之變化

產生 Wallerian 退化，退化從損傷處向遠端軸突進行。初期，軸突腫大，軸突內細胞質微細管和神經絲產生蛋白水解，而呈現顆粒狀。隨後軸突分解成碎片，並被巨噬細胞(macrophage)吞噬^[52]。另外，髓鞘化軸突之髓鞘，也被破壞，故其發生作用於神經組織之軸突及非神經之髓鞘，這也是本實驗大膽假設可能之機轉。

近端的軸突之變化

變化和遠端軸突發生的情況相似；但僅進行到軸突斷傷處的最近一個蘭氏結處(node of Ranvier)就不再向進心端延續。

神經元細胞本體之變化

細胞體的變化，叫逆行性退化(retrograde degeneration)。變化起始於損後兩天，發生在細胞體內，兩週內破壞進行至最大，Nissl 物質變細呈顆粒狀，而分散至整個細胞質，叫做色素溶解(chromatolysis)。色素溶解於軸突阜(axon hillock)開始，再進行至整個細胞體。此外，細胞核會從中央被推擠而移至細胞周圍，細胞體呈現腫大且圓。如果受傷處愈接近細胞體，色素溶解和細胞漲大愈嚴重。有些神經元中，靠近細胞體軸突的損傷可能導致神經元的死亡。另一方面，受傷離細胞體

越遠之軸突時，對神經元細胞體傷害愈輕微。

2.3 周圍神經損傷在中醫的觀點

2.3.1 周圍神經相對照中醫學中的觀點

神經這個名詞中醫沒有記載過，以中醫學的角度及古典醫書之記載，搭配現代醫學之描述，中醫仍有神經的概念，但是兩者並不能劃上等號，完全吻合。

周圍神經可能是一部分的經脈

在中樞神經系統，《黃帝內經》已有腦與髓的名稱，二者屬奇恆之府，與兩者相關聯的經絡有督脈、腎經、肝經、膀胱經等。但是周圍神經中醫典籍無正式神經名詞之文獻被提及，古人既然記載“度量切循，解剖視之”之解剖學之應用，假設當時解剖能看到血管，理論上應將如同血管的周圍神經不致被忽略。既然如此，那周圍神經，應以何種論述來呈現？推論而言，應與經絡學說的可能性最高。

週邊神經，其內有自律神經並行，分布於頭面四肢軀幹與內與各個器官，分布的方式與心血管系統、淋巴系統相似。經脈在《黃帝內經》之《素問·本藏》：經脈者，所以行血氣而榮陰陽，濡筋骨，利關節者也；《靈樞·經脈》：雷公曰：願卒聞經脈之始生。黃帝曰：經脈者，所以能決死生，處百病，調虛實，不可不通；《靈樞·海論》：夫十二經脈者，內屬於府藏，外絡於肢節^[51, 52]。體內器官，有五臟、六臟、奇恆之腑，皆與經絡有連繫。體外之頭面四肢與軀幹等部分，其主要的組織有皮、脈、肉、筋、骨等，也與經脈連接著，在《黃帝內經》中《經脈》、《皮部》、《經筋》、《經水》、《脈度》、《骨度》各篇中有詳細的描述。莊氏：經脈，即屬今之周圍循環系統及周圍神經系統，前者包含：動脈、靜脈和淋巴管^[54]。劉氏：經脈深在體內，出入於臟腑筋骨肌肉之間，遍布於全身上下，頭面四肢^[53]。所以周圍神經可視為經脈的一個部分，出入於臟腑筋骨肌肉之間，遍布於全身上下，頭面

四肢^[53]。

但是，以十二經脈之循行，十二經脈之生理，無法百分之百與現在之周圍神經系統完全契合。

2.3.2 周圍神經斷傷相關的中醫病證

由於中醫觀點上，沒有神經之描述，所以關於周圍神經受傷之論述概括於外傷病症治中。在中醫未與西方醫學之解剖學交流之前，過去之中醫不曾將周圍神經斷傷獨立出來討論。中醫過去對周圍神經損傷的病狀，也許會在許多病證中提及，但是內容散在於不同篇章中，沒獨立專論。在中醫診治的整體觀中，因診斷及治療設備之限制，加上古代傷科手術概念受限，因此無法將外傷中的神經斷傷單獨處理。

現代醫學將神經損傷分為神經失用、軸突斷傷、神經斷傷三大類。此次實驗將範圍鎖定神經斷傷，現代醫學將周圍神經斷傷屬於外傷環節。神經斷離發生時，在病人損傷急症穩定後，傷口清創後，再進行神經修復手術。著眼於神經斷傷時，從外傷引起的主要病證中，古人對相關“神經斷傷”的認識與處理。神經斷傷在中醫的病證分類中，可屬於金瘡、骨折、脫位、筋斷、壓砸傷的範疇。中醫對各種“斷”的病證，有時也常用“絕”字來表示，如脈絕，筋絕，經脈絕等。

創傷、金瘡

西周春秋時，已有了創傷的病名 《周禮記 曲禮上》“頭有創則沐，身有瘍則浴”。“皮曰傷 肉曰創 骨曰折 骨肉皆絕曰斷”。將外傷分為傷、創、折、斷四個不同概念。皮脈肉筋骨的損傷表現於皮膚上的就是“傷”，皮與肌肉裂開曰“創”；骨骼折斷曰“折”，皮膚肌肉筋骨都離斷曰“斷”^[55,56]。

神經斷傷在中醫理論之結論

從中國歷代傷科、外科文獻中，對神經斷傷於中醫診治可囊括在金瘡、骨折、脫位、筋斷、壓砸傷等病證中。神經斷傷引起的神經功能喪失，神經幹無法復元的症狀，在相關病證雖有描述，但受限於當時對解剖的認知與治療的水平，無法對神經幹的斷離做特別的處置。中醫重視斷證的治療，骨折可接，筋斷可續，出血可止，對皮裂，筋

斷，腸斷可縫合。本節提及周圍神經可歸類於經脈的一部分，神經斷傷併大管血斷裂引起的病證，應屬於脈絕，筋絕，經脈絕等病證，中醫認為這些病證病情嚴重，治療困難，預後不佳。《諸病源候論》就有筋不得屈伸，痺不仁等金瘡後遺症的記載。隨著對神經系統의 清楚認識，目前對周圍神經受損，醫師會重視周圍神經功能的恢復。在神經斷傷的治療部分，過去中醫雖無直接提及，但不容否認的是，從古代文獻中，中醫對斷證的治療是多方面的，包含傷口處理，手術縫合，針刺，中藥外敷內服等治療，於相關內容中，不難發現許多與神經斷傷的內容有關。故應從過去之中醫文獻整理中，應可發掘許有助於神經斷傷修復的理、法、方、藥等。

2.4 周圍神經斷傷修復術

2.4.1 神經修補技術之方式

神經斷傷，間距決定神經再生的預後。神經斷裂的間距，是接合方式之決定因素。以現有神經斷傷手術方式，有以下四種修補技術：

斷端直接縫合

又叫做神經外膜修復術(epineurial repair)。接合前，將兩斷端修剪，使接合面平整，易於手術之進行^[60]。於顯微鏡下，兩斷端之神經外膜及血管對齊，以縫線穿過兩斷端之神經外膜縫合。手術應注意要點是，術後數日內吻合處會腫脹，故縫合時，縫線張力不可以過緊。此種手術適合於斷裂長度少於數毫米之神經，優點是手術簡單、且手術不會對神經造成嚴重的傷害。缺點是不能保證神經幹內的神經束能完全吻合^[61]。

神經束縫合

依手術過程而言應稱為“神經束群縫合”(group fascicular repair)^[62]，手術方式是在高倍顯微鏡下，將神經幹中之神經束群分離出來。將兩斷端附近的之神經外膜移除，再以 9-0 或 10-0 縫線將兩斷

端相對應之神經束群於圍神經膜(perineurium)處縫合。僅適於斷裂長度少於數毫米之神經缺損。

優點：

- 1.使相對應之神經束群能較正確地吻合。
- 2.手術移除部分神經外膜，去除了術後會起反應結締組織，對術後神經的復原有所幫助。

缺點：

- 1.由於移除神經外膜與分離神經束群，過程造成相當程度的組織外傷，包括了血管受傷及術後水腫。
- 2.縫合時，針線穿入圍神經膜，會導致神經束內之內含物部分出脫出及神經束內之環境延遲恢復。

神經段移植

常用來當做移植之它段神經的神經是 sural nerve，因為它有較大的直徑及在兩側下肢膝膕窩至外踝，每側可取得的長度約四十公分，在身體上之功能較不重要。再加上此神經內含的神經束，從單一神經束至多重神經束均有，其分枝少，故最常用於神經移植^[63]。手術時，先將兩斷端的神經瘤及斷端間的疤痕組織移除，藉助顯微技術，將兩斷端附近之神經外膜移除，隨後將兩斷端之神經束群分離，最後將移植入的神經兩端之神經束群與原斷端之神經束相縫合(此即為 interfascicular nerve grafting)；手術要點是，神經移植的縫合不能承受任何張力，所以縫合時僅以非常細之線，如 10-0 nylon，縫 1-2 針，使斷端保持連續狀態即可。有時，遠縫合端會有疤痕組織形成，而阻礙神經的再生。若此現象(tinel sign)於二至三個月內未改善，則此處必須手術移除疤痕組織重新接合一次。神經移植手術適用於較長的神經間隙缺損。優點是神經移植成功率高，缺點是移植神經來源的取得相當困難，同時在取得神經移植段時可能導致其他部位功能的缺損。

神經管

是將神經兩斷端內置於一圓管的兩端，並利用此圓管來導引及支持再生神經纖維。此手術方式用於較長的神經間隙損傷，當移植神經的取得有困難或不要神經移植段部位功能受損導致的缺點時，此法不

失為一好的替代方式。

2.4.2 神經管接合術實驗模式

神經管接合術用於神經再生，目前是一個常被廣泛設計的實驗模式，目前也有現成之商品用於臨床。它可將控制許多影響神經再生的外在因素，研究者可以單一或少數控制條件下深入地探討神經斷傷後神經再生之機轉，研究設計，以增進神經再生為主要目的。這個領域中，有許多以下課題：手術方法，研究神經管的材料，分析神經管內的神經再生情形，包括組織學，細胞生物學，分子生物學的觀點；有學者觀察各種影響神經再生的因素，包括疾病，疤痕組織，神經的間距，藥物，體外物理性刺激與神經管內添加物質。

本論文主題著重在探討神經管的材料，其要點神經神經管內神經的間距與神經管內添加促進神經再生的物質。分述如下：

神經管材料

許多材料已研製成神經管，理想的神經管必須具備下列之特性^[30]：

1. 生物適應性(biocompatible)良好。薄且具彈性。
2. 透明：可以觀察神經生長情形。
3. 抑制纖維母細胞(fibroblast)和結締組織(connective tissue)在受傷神經周圍的任意增生，而避免神經瘤(neuroma)產生。
4. 能促進神經復元修補和再生。

動物體內的動、靜脈源自生物體本身的材料，體內的動、靜脈在早期是最常被應用^[66, 67]。這些材料雖不會排斥，但和人工合成的材料比較，並無特殊的優越性，並且必需對動物本身造成多餘的傷口^[30, 68]。

金屬管 和純生物材料比較，金屬製的人工合成神經管如 tantalum^[66]和不鏽鋼^[67]，造成較少的組織反應，但由於金屬的堅硬及不透明等特性，易造成植入的困難及神經的再度傷害。

生物材料 多孔神經管如 Millipore[®]，是由高生物適應性的聚酯纖維所製成^[68]。但碎裂鈣化，所以它在體內可能會被快速降解，反而最後反而導致神經瘤的形成^[49] 可被分解的生物材料(biodegradable)，如

聚酯聚合物乙二醇和乳酸的聚合物所製成的神經管也已試用於實驗動物中而可能妨礙了神經的再生^[71]。

矽膠管 (silicone tube)^[72] 1943 年來矽膠開始被引用，現在已有許多不同型態的矽膠產品用於生物體中。其優點包括：1.在高溫的情況下依然保持良好的穩定性。2.在低溫中保持良好的彈性。3.提供良好不黏著的表面。4.有抗泡沫化及抗水性。5.十分穩定，可抗氣候、陽光、氧化、及許多化學藥品，也是一種良好的電絕緣體。

神經管內神經的間距

神經斷傷後，斷端的間距愈大，再生愈困難。在神經管的實驗中，單純使用神經管，完整的再生軸突可以通過 10 mm 的間距，這個間距許多學者稱為關鍵性的間距(critical gap length)。一但神經兩斷端的間距超過關鍵性的間距，再生的軸突就無法輕易通過神經管。但是加入其他影響神經再生的因素後，這個情況會被改變^[42, 73, 74]。

管內添加促進神經再生的物質

神經管的實驗模式中，如加入不同促進神經再生因素後，斷傷神經可通過比關鍵性間距還大空隙。這些物質包括膠原蛋白、細胞附著分子及神經營養因子等。

膠原蛋白 Yannas 將大鼠坐骨神經截斷，發現再生神經能順利穿越 15 mm 間距。1988 年使用矽膠管對截斷神經做一接合，成功使用再生神經於 4-16 週內跨越 20 mm 的間距 (Madison)^[75]。Chen 等在(2000)年使用內填由 collagen、laminin 及 fibronectin 等膠質(extra-cellular matrix, ECM)之矽膠管對截斷神經做一接合，其中，實驗組在 6 週內跨越 10 mm 間距的比率達 90%，而空管組的比率僅 60%^[76]。

Laminin 與 fibronectin laminin 是醣蛋白(glycoprotein)的一種提供細胞附著分子，在體外(in vitro)實驗中，有明顯促進和支持神經生長的作用^[77]。Laminin 於周圍神經中非常豐富，它可由 Schwann 細胞體外培養得到^[78]。它也是基底膜(如內皮細胞和 Schwann 細胞)的一種主要成分^[63]。當 Schwann 細胞的活性愈大時，laminin 的成分亦愈多。而 fibronectin 亦和髓鞘的生成有關。神經移植的第二週，fibronectin 能提供細胞移行和血管芽發生所需的物質。在 1990 及 1993 年 Woolley 和

Bailey 成功地使用內含 fibronectin 和 laminin 混合物矽膠管來接合截斷的大鼠坐骨神經，分別經過六週和四個月的時間，使再生神經穿越 18 mm 的間距^[80, 81]。

NGF 體外實驗，NGF 不僅是神經存活因子，也促進神經的再生和特定功能的表現^[82]。報告顯示，大白老鼠完整的坐骨神經亦含有少量的 NGF，將此神經截斷後，在兩端的 NGF 上升十五倍之多^[83]。當交感神經被截斷後，以 NGF 在局部或在交感神經節附近做治療，發現能防止神經體的腫脹何其內核的變化^[84]。NGF 亦能影響神經生長的方向，在體外實驗中發現，神經會朝著 NGF 含量多的部位生長^[85]。在動物實驗中亦發現，若將 NGF 注入大白鼠的延腦內，交感神經會朝著 NGF 注入的方向生長^[70]。Chen (1989)在截斷兩側兔子面神經後，兩側均以矽膠管接合斷離的面神經，矽膠管神經間距為 8 mm，形成的神經生長空間(nerve growth chamber)為 35 μ l，一側填入 NGF，另一側加入沙林。結果發現，以 NGF 治療的一側神經再生較沙林治療的一側完好^[86]。Bu (1999) 發表 12 mm 長的矽膠管中內填 NGF，增強兔子下齒槽神經的再生與感覺功能的恢復^[88]。

2.5 周圍神經再生過程

軸突損傷而斷裂後，軸突遠端逐漸地退化。沒有與軸突接觸的 Schwann 細胞會增生，形成基底層管內的細胞帶，叫做 Schwann 細胞柱(Schwann cell column)。

周圍神經再生三個主要步驟：1.軸突萌芽(axonal sprouts)的產生，2.再生軸突生長(regenerating axon outgrowth)，3.再支配原本的標的。周圍神經系統包含了神經元與支持細胞 Schwann 細胞，神經軸突斷傷後，這兩種細胞的相互作用決定了神經再生結果。所以將神經元斷傷後的環境因子與受斷傷的神經元來探討影響神經再生因素。

2.5.1 環境因子

Schwann 細胞柱

Schwann 細胞在正常的髓鞘化與非髓鞘化的神經旁是非活動性的表現，有豐富異染色(heterochromatin)的細胞核與相對電緻密的細胞質。

在神經斷傷後，Schwann 細胞就活化起來，並且形成 Schwann 細胞柱。Schwann 細胞柱是髓鞘被巨噬細胞移除後，Schwann 細胞增生形成，是周圍神經再生，使軸突生長到達目的地不可或缺的過程。再生軸突在蘭氏結開始，從損傷的神經近端長生進入神經遠端，神經遠端換言之就是 Schwann 細胞柱，最後再生軸突延伸到標的器官。若再生軸突不進入 Schwann 細胞柱而進入結締組織，它們在結締組織中延展幾厘米後就停止生長。Schwann 細胞柱也是神經再生中神經營養因子的來源。總之，Schwann 細胞柱提供了利於軸突再生的環境。

Schwann 細胞與細胞外基質(extracellular matrix, ECM)

細胞都會分泌細胞外基質(extracellular matrix, ECM) 在細胞之間的空隙中。細胞外基質包含三種主要的蛋白成份：糖蛋白、膠原蛋白與細胞附著分子(cell adhesion molecule, CAM)。糖蛋白為細胞的緩衝器；膠原蛋白提供張力與彈性；細胞附著分子與細胞膜上的接受體接合^[41]。

基底層(basement membrane)(圖 2.3)一特化的細胞外基質，大約 60-100 nm 的厚度，它一邊與細胞膜上的接受體蛋白接合，一邊與纖維狀的膠原蛋白或疏鬆結締組織的成分結合。基底層是一種膠(glue)，一邊粘著細胞，另一邊粘著環繞的結締組織。第四型膠原蛋白為平面膜狀結構(圖 2.4)，細胞附著分子是基底層的基本組成。在一般細胞外基質的膠原蛋白為纖維狀的(第一型、第二型、第三型)，主要成份為第一型的膠原蛋白；而基底層則是第四型的膠原蛋白。第四型的膠原蛋白與 laminin 形成二度的網狀結構(平面狀)。三個第四型的膠原蛋白形成 400 nm 長的三重螺旋結構，於 N 端有一個非膠原蛋白的結構，在 C 端則是一個大的球狀結構。螺旋的結構因非螺旋結構的阻斷而不能連續，三重螺旋結構的側面的相互作用與 C 端頭對頭的交互作用下，第四型膠原蛋白結構形成^[41]。

基底層是神經細胞骨架，缺乏基底層時，細胞沒有能力與結締組織的物質形成功能性的接合。Schwann 細胞的基底層在神經再生方面扮演著重要的角色。在去除 Schwann 細胞的基底層的實驗，再生的軸

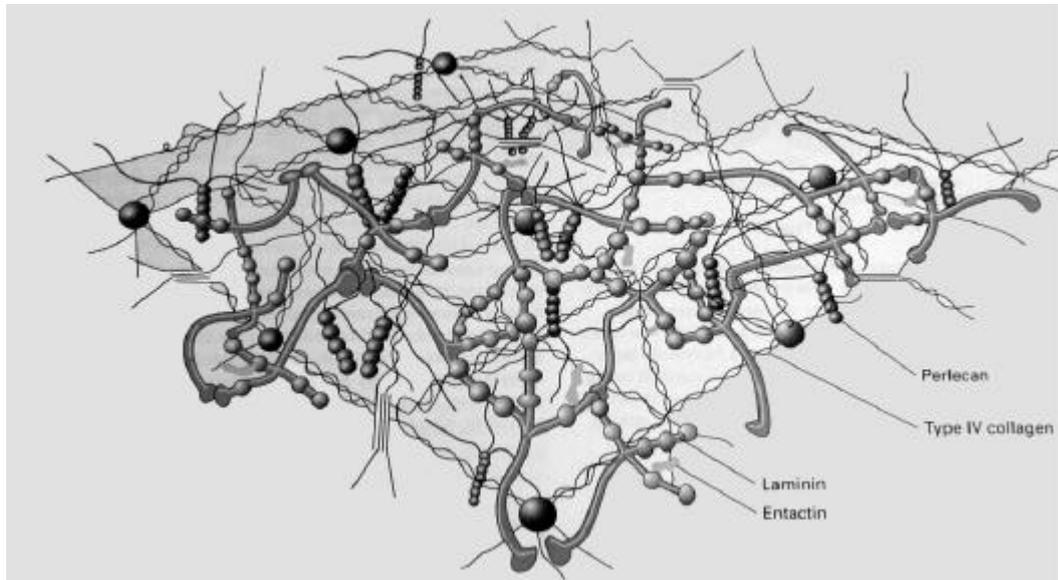


圖 2.3 基底層的構造 [41]

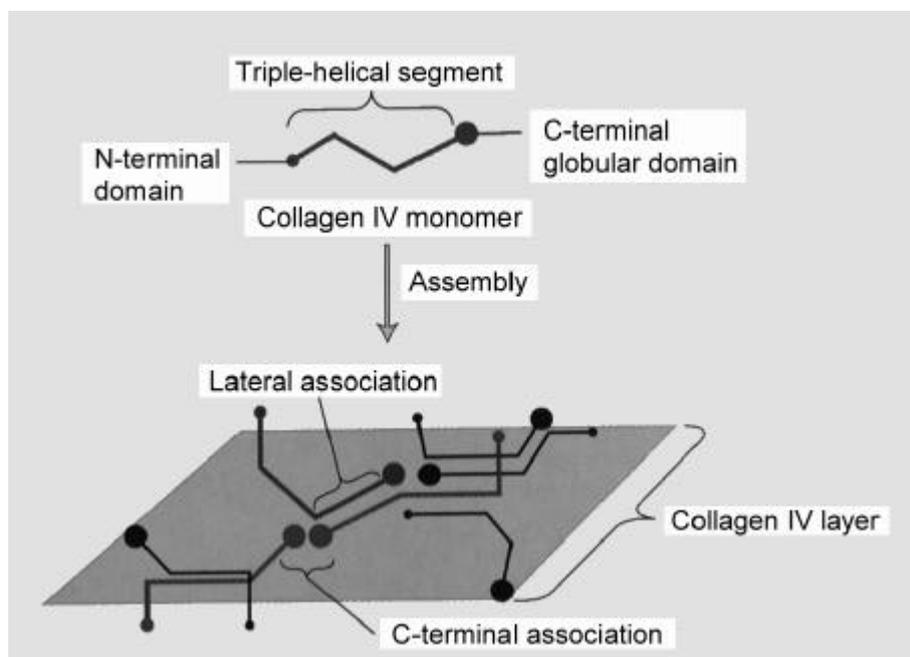


圖 2.4 Type IV 膠原蛋白的構造 [41]

突沿著 Schwann 細胞基膜內側面生長；在神經內膜的結締組織沒有軸突是生長在基底層管的外面^[33]。基底層的內側含有某些細胞附著分子使得再生軸突有效率地附著。隨著再生的進行，多數的軸突在基底層管內生長，Schwann 細胞由近斷端移行並群集地包圍著軸突。聚集的軸突被 Schwann 細胞分類形成單一的軸突，最後以一對一的關係與軸突形成髓鞘化。前面提及 Schwann 細胞基底層含有不同種的細胞附著分子，包括 laminin, nidogen, perlecan 等，再生軸突利用位於 Schwann 細胞基底層內面的附著分子附著。細胞附著分子在軸突再生的過程有兩個作用點，一是軸突與基底層的接合。另一是軸突與 Schwann 細胞的接合。上面所述的是軸突與基底層的接合。Schwann 細胞細胞膜上表現的附著分子有三大類：一、immunoglobulin superfamily，諸如 N-CAM, L1, P0 等。二、cadherin superfamily，諸如 N-Cadherin, R-Cadherin 等。Schwann 細胞細胞膜上的附著分子，使再生軸突與 Schwann 細胞的接合。一般而言，再生軸突未髓鞘化前這些附著分子會繼續存在，一但再生軸突髓鞘化時，附著分子就偵測不到了。

神經營養因子 (neurotrophic factor)

斷離神經的遠斷端對再生軸突產生營養性的影響^[73]。斷離神經的遠斷端形成 Schwann 細胞柱，它是神經再生中神經營養因子的來源。尤其是處於 Wallerian 退化中 Schwann 細胞，它們在增生的階段會產生多種神經營養因子，包括 NGF 與腦源性神經營養因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 等神經營養素 (nerurotrophin)。Schwann 細胞基底層也關係著神經營養因子所引發的軸突再生作用，因為基底層會保存神經營養因子，例如纖維母細胞生長因子會與基底層內的 heparan sulfate proteoglycan 結合^[33]。從 Schwann 細胞分泌的神經營養素，其濃度如梯度般地散布於再生軸突的四週。再生軸順著神經營養素的濃度梯度向遠斷端伸展。雖然其他的營養因子包括 insulin-like growth factor and fibroblast growth factor, FGF 已被證實可促進再生軸突的生長，但仍然不知道這兩個因子是否由 Schwann 細胞製造出來的。有學者提出，因為 FGF 與睫狀體的營養因子 (ciliary neurotrophic factor, CNTF) 缺乏信號縮氨酸 (signal peptides)，這兩種因子從細胞釋放

不是借由分泌，而是從細胞的損傷^[33] 而來。

因本實驗中，NGF 為主要研究材料之一，故在此就 NGF 於周圍神經再生過程的變化做一論述。它的來源之一為成年公鼠的下顎下腺 (submandibular gland)。它的生物主要存在於具 26000 分子量的 dimer。在周圍神經系統中，NGF 產生於交感與感覺神經元的標地器官，以逆行性的方式運送到細胞體。與有緻密的交感神經支配的虹膜比較 *iris*，正常坐骨神經中 Schwann 細胞含較低滴定濃度的 NGF-mRNA。神經在軸突斷裂後，在遠斷端的 Schwann 細胞開始以一定的水平生產 NGF，其濃度在二十四小時後達到高點，並維持至少二個星期。斷離神經的遠端有巨噬細胞的侵入，Schwann 細胞 NGF 高水平生產的維持，是巨噬細胞分泌的白細胞介素一所調節。NGF 和神經元細胞膜表面的接受器結合，進一步啟動和神經存活、神經生長及訊息合成有關的反應^[74]。NGF 在細胞上的接受器有兩種，一是 *trk A*，為高效的接受器 (high-affinity receptor)，另一為 *p75^{NGFR}*，為低效的接受器^[75]。

2.5.2 神經元本身

除了環境因子外，神經元於神經再生也有重要過程。

萌芽 (spout) 與生長錐體 (growth cone) 之過程

再生軸突，以分子生物學的角度，促進生長錐體伸展分子形成，是很重要的。再生軸突在最接近損傷近端的蘭氏結開始，在這個位置，軸索鞘 (axolemma) 的下層絨毛 (undercoat) 消失，細胞膜突出形成了萌芽。萌芽與生長錐體的區別在於發生時間點，前者發生於神經再生初始階段，接著重點在生長錐體。了解再生軸突成長動態變化，須將焦點放在生長錐體上。一些分子已被確認與提升生長錐體延展有關，它們是再生軸突生長錐體內的突觸微囊相關蛋白 (synaptic vesicle-associated protein)、protein kinase C 與 tyrosine kinase^[33] 這些為於細胞膜上，與訊息傳遞 (signal transduction) 有關，影響細胞核之基因表現，而製造蛋白質，這些會影響細胞表現。

突觸微囊相關蛋白有：synaptophysin, synaptotagmin, synapsin I 等

等，位於再生軸突生長錐體內，借著細胞外吐作用使微囊與軸索鞘融合，提供了再生軸突延展所需的細胞膜。

Protein kinase C 和 GAP-43 生長錐體的附著與生長活性有關。

再生軸突生長時，細胞內信號傳導是由神經營養因子與附著分子所調控，而 Tyrosine kinase 於細胞內信號傳導(intracellular signal transduction)的途徑上扮演重要的角色。另外萌芽或生長錐體的細胞膜上有許多的神經營養因子接受器，也有許多細胞附著分子。

細胞體的復元

核仁會向細胞核周移動，多核小體聚集重現於細胞質中。這顯示 RNA 和蛋白質合成正加速進行，其他組織的復原包括了 Nissl 氏物質的重建，細胞體腫脹的減少，細胞核回到它的中央區域等。

2.5.3 矽膠管神經再生細胞變化

矽膠管神經接合術，用來修復大鼠截斷的坐骨神經，管內神經再生的細胞學變化如下：

液體積聚 (fluid accumulation)

術後第一天，管內充滿了淡黃液體，液體含有血清 (serum) 及細胞體液^[57]。研究顯示，內含數種成份，如 laminin, fibronectin 及神經營養因子 (neurotrophic factor)，這些物質對體外培養 (in vitro) 的神經元會促進生長的作用^[63]。Williams 等 (1983) 於為期四週實驗中顯示，管內液體在整個實驗期中均能圍繞著再生神經組織^[7]。

纖維橋的形成 (fibrin bridge)

術後一週內，易碎的纖維橋 (含 fibroblast, fibronectin, leukocyte, erythrocyte) 在管內形成，沿著管內中軸移動，隨後將兩斷端接合起來^[8]。Williams 等 (1987) 指出，接合後一週，再生神經是由 fibrin matrices 所組成，其中包含了肥大細胞 (mast cell) 和紅血球等^[7]。這纖維橋提供了後來陸續遷入的 fibroblast, Schwann 氏細胞及軸突一個良好的骨幹。術後十四天，經染色後的纖維橋，可見非常細絲狀的 laminin 和 fibronectin^[63]。纖維橋的中段通常呈現狹窄的現象，纖維橋在神經再生的初期 (一週內) 比其他時間而言有較大的截面積^[7]。

纖維母細胞移行 (fibroblast migration)

術後第七天，纖維母細胞增生並且開始由兩斷端進入纖維橋，這些纖維母細胞外觀上呈現長條形，缺少基底膜，內部則是明顯擴張的粗內質網^[7, 76]。當纖維母細胞進入纖維橋時，這些細胞會在矽膠管內形成一向心形狀的細胞層，包圍著兩斷端。之後，這些細胞會由斷端進入纖維橋的核心區^[7]。十四天後，數層向心狀排列的纖維母細胞已圍繞著纖維橋的核心區^[8]。

Schwann 細胞移行 (schwann cell migration)

以 Toluidine blue 染色觀察實驗神經再生標本時，Schwann 細胞可以看到具有中密度的細胞質和一個卵圓形 及白的細胞核^[77]。Schwann 細胞的增生和遷徙在神經接和後的一週是較明顯的，這個現象則與再生神經中 Schwann 細胞的 mitogenic factor 有關^[8]。Schwann 細胞自兩段端進入纖維橋^[7, 63, 77]，它的基底膜提供了再生軸突吸附及生長的基質^[7, 59]。Bailey 等(1993)以成功地運用 laminin 和 fibronectin 的複合物，使 Schwann 細胞能較快速地遷移至再生神經截斷，而促進軸突的再生^[64]。

血管芽形成 (vascular sprout)

血管細胞在神經軸突生長的環境上，扮演舉足輕重的角色。血管芽在接合後的兩週，自斷處長出，血管的移行經常在 Schwann 細胞和 fibroblast 出現之後。血管可以在再生細胞的邊緣和中央處被發現^[76]。Williams 等(1990)觀察到，接合後四週，整條再生神經(10 mm)均可看到血管的存在^[7]。Jenq 與 Coggeshall (1987)發現，接合後八週，在矽膠管內再生細胞血管數與血管大小(平均血管數 48，最大直徑 70 μ m)比較，有增加的趨勢^[76]。Danielsen 等(1987)則發現生長促進物質，例如 rat amnion membrane matrix (rAMM)會促進矽膠管內在生神經近端的血管數增加(和接合後十六日的對照組比較)^[77]。

再生單元(regeneration units)和 Schwann 細胞柱

Williams 等(1987)以矽膠管修補被截斷之大鼠坐骨神經(10 mm gap)，發現接合後兩週，距近斷端 1-5 mm 處，Schwann 細胞聚集在一起，圍繞在再生之無髓鞘軸突的周圍^[7]。這些軸突和 Schwann 細胞的

具集體也可以在類似的神經管和術中出現，這些聚合體被稱作“再生單元”^[78]。

Williams 等也發現神經管接合術中許多細胞聚集在遠斷端 1-3 mm 處的矽膠管內，這些來自遠斷端的聚合物稱為“Schwann 細胞柱”。當組織以 Toluidine blue 染色時，可見蒼白的 Schwann 細胞核^[7]。這些 Schwann 細胞柱通常有數個細胞厚，它們的特徵是擁有基底膜，以及在細胞質內有許多的細長絲狀纖維。

當來自近端的再生軸突和遠端的 Schwann 細胞柱接觸後，Schwann 細胞柱會影響再生軸突往遠斷端生長，Williams 等在 1983 年曾發現，再生過程的第四週時，位於再生神經遠斷端附近的 Schwann 細胞柱會被再生單元所取代，意味著來自近端的軸突成功地進入神經的遠斷端^[7]。

髓鞘化 (myelination)

周圍神經的髓鞘是由 Schwann 細胞所形成。最早期的髓鞘化約在接合後三星期發生，此時在再生神經的近端可見軸突(約 0.1 μm 厚)和薄且緊密的髓鞘^[8]。Le Beau 等在 1988 年的實驗發現，隨著接合後時間的增長，髓鞘的厚度變得愈厚(術後 42 天，髓鞘厚度 0.37 μm ，術後 435 天，髓鞘厚度 0.57 μm)^[57]。然而，經由再生過程產生的髓鞘，和正常神經的髓鞘比較起來，通常是較薄的。儘管如此，電生理的研究顯示，經矽膠管再生的神經之持續興奮期和不反應期，和正常的神經比較起來是一樣的^[79, 80]。

2.6 藥物與 NGF 的交互作用

在神經的再生與修復方面，神經營養因子的作用已被廣泛的討論，其機轉也愈來愈清楚。因此，許多藥物用來試驗是否能增進或抑制神經營養因子的作用，NGF 就是研究的重點之一。許多學者使用體內或體外的實驗模式來進行這些試驗。Bush (1991)在 PC12 細胞株實驗中發現 NGF 增強 bradykinin 引起的鈣離子流動與釋放^[81]。

Lourenssen (1998)在 PC12 細胞株實驗中發現 lysophosphatidylserine 增強 NGF 引起的 PC12 細胞株神經突突出^[82]。Schicho (1999)發現以 capsaicin 治療的大鼠，再加上 NGF 的刺激後，感覺神經元 GAP-43 的表現增加，代表著神經再生正在進行^[83]。Williams (2000)發現鉛是經由 ERK/MAPK 途徑的活化來增強 NGF 引起的 PC12 細胞株神經突突出^[84]。Jonnala (2001)發現 NGF 的訊息傳遞會被 peroxynitrite 抑制^[85]。

2.7 黃耆

黃耆^[96]

本實驗採用黃耆乃因補陽還五湯(Buyang Huanwu Decoction)^[19] 証明對周圍神經斷傷(neurotmesis)有明顯之療效，而本方其內重用黃耆四兩，為了明瞭黃耆是否有效，而黃耆皂? (astragaloside)是黃耆之主要成分，實驗中用 astragaloside IV 是由於目前實驗室型錄只有此配方 (Astragaloside 化學式為 $C_{41}H_{68}O_{14}$ (Astradamant green Gx) , chemical constituent of astragali radix: I. Kitagawa, et al. chem.. pharm. Bull 31. 698 (1983). Fulka laboratory chemical reagents 2001/2002), 且其製程確定，化學結構式確定，不用考慮道地，季節，製備過程，這是本實驗選用之原因。至於黃耆對於神經再生之機轉，似乎沒有直接之證據，許多報告呈現，黃耆對免疫有確定之療效，依可能之機轉為巨嗜細胞，改變神經生長所需之環境，進而間接加速神經再生，是本實驗可能之推論。

「黃耆」如同其眾多之藥名，其真正原因為從古至今出現許多不同之基原植物，故其有許多不同之變種。依《神農本草經》記載之黃耆品種， *Astragalus huantchy* Franchet 為正品。

2.7.1 來源

源自豆科 (Leguminosae)。膜莢黃耆 *Astragalus membranaceus*

(Fisch.) Bge. 蒙古黃耆 *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的根。

依據東丈夫博士、名越見朗博士認為應以 *Astragalus huantchy* Franchet 為正品。今日局方收載者為豆科 Leguminose 之植物膜莢黃耆 *Astragalus membranaceus* Bunge 及其同植物主要包括內蒙黃耆 *Astragalus mongholicus* Bunge 之根(白皮耆、黑皮耆屬之)。品明稱為「綿黃耆」、「綿耆」、「沖耆」、「正口耆」者均係內蒙黃耆之栽培品；而正口耆乃為收成時經嚴選者，為今日所有黃耆之最上品；沖耆乃為選別正口耆後，所餘之次者，並以烏拉葉(欒樹葉) *Koelreuteria paniculata* Laxmann (無患子科 Sapindaceae) 之煎汁將外部染成黑色藍黑色(本品行銷廣東)。另外在國外(日本)市場中屬於白皮耆系之"條耆"經證明與膜莢黃耆同一基原，據文獻記載，本品未曾在本(臺灣)省市場中出現。

別名：北耆，元耆，西黃耆，綿耆，北耆。

性味歸經：性甘，微溫，歸入脾、肺經。

2.7.2 歷代本草所載功效

黃耆(Huangqi)：《神農本草經》草部上品之下始著錄，《本草備要》第一味藥，可見其重要地位。按許慎《說文》：「耆，老也，為會意、形聲字。耆乃老旨之合字。日乃旨字之略，旨意為甘美，蓋以年老則無外欲，僅好甘美之食，因此以老旨構成耆字，用以意味年老。」李時珍曰：「老，長也，黃耆色黃為補藥之長故名。」《神農本草經》一名「戴糝」，與加工醱酵糖化相關；《名醫別錄》一名「戴椹」、一名「獨椹」，此均與栽培、加工有關；一名「芰草」其命名來由不詳；一名「蜀脂」與地道品質有關；一名「百本」應與經濟、生態相關；《本草綱目》又名「黃耆」。《藥性論》一名「王孫」似與主治部位相關。黃耆、黃耆，皆為後世之誤寫。臺灣則稱為「黃耆」、「青耆」、「晉耆」、「蜜耆」(以蜂蜜蜜炙者)，香港稱為「Wong-Ka」，韓國稱為「Hwang Ki」，日本稱為「OWAGI」。黃耆有許多基原植物

此外尚有他黃耆屬 *Astragalus* 屬、岩黃耆 *Hedysarum* 屬、土黃耆類之各種植物。紅耆 *Hedysarum polybotrys* 在台灣稱為"晉耆"或"

紅皮耆"，以紅藍色繩子捆綁成把者稱為 "把晉耆"。

黃耆的品質鑑定應以身乾、粗長、獨枝無杈，皮光皺紋少，質堅、無黑心和空心者為佳

《本草備要》：甘溫，生用故表。無汗能發，有汗能止，溫分肉，實腠理，瀉陰火，解肌熱；灸用，補中益元氣，溫三焦，壯脾胃，生血生肌，排膿內託，瘡癰聖藥。痘證不起，陽虛無熱者，宜之。為諸藥之長，故名耆。皮黃、肉白、堅實者良，入補中藥，搥扁蜜炙；達表，生用。茯苓為使，惡龜甲、白蘚皮，畏防風。

2.7.3 各種黃耆之產地：

(1) 膜莢黃耆

在東北稱「條耆」或「東北黃耆」，產地主分布於東北、西伯利亞、韓國。東北多野生於遼寧、吉林及大興安嶺，而主產於遼寧之岫岩、海城、開原、鳳城，並以瀋陽為集散中心。在東北市場上除本種外另又從祁州輸入內蒙黃耆。

(2) 內蒙黃耆

產地分布於河北、山西、內蒙沿恆山山脈廣有栽培，而以山西渾源為集散中心。山西省為中國大陸黃耆之主要產地，其產量占全部80%，內蒙古之大青山、武川、武東、固陽、土默特旗、卓資山、興和、察哈爾盟亦產內蒙黃耆。此種綿黃耆自宋圖經本草以後始漸著名（憲州黃耆）。市場品亦有白皮耆、黑皮耆存在。

(3) 岩黃耆（其基原植物包括蒙古黃耆和多序岩黃耆）

蒙古黃耆分佈於蒙古、熱河、內蒙、陝西、甘肅，而以蒙古黑黃耆（此中可能尚有別種 *Hedysarum* spp. 之岩黃耆混雜）之名在河北之祁州為交易中心。此種為從來文獻少記載。（晉為山西省之簡稱）自宋圖經本草以後由於山西產之綿耆（憲州黃耆）日漸著名，今日在本省將多序岩黃耆以 "晉耆" 之名銷售，因其品質藥效頗異於綿黃耆及東北黃耆，恐易造成後人之錯覺，故似乎予以澄清較為恰當。

黃耆之品質如何掌握方能應用得宜？

黃耆之種類繁多，其藥效常隨之有所差異，為能有效掌握其品質

可從市場品就兩方面著手：利用植物內部形態學之知識，從各種黃耆之內部構造或組成特徵以掌握其基原。利用化學方法，從各種市售黃耆之含有成分及其含量，以藥理學的角度，評估其療效並掌握其基原。雖然不同品種，但其中皆含等類黃鹼素〔 Isoflavonoids 〕及 Astragalosides，只是比例不同而已。(9)

2.7.4 功能

補氣升陽，固表止汗，利水消腫。有強壯，興奮神經，激性，利尿，降壓，抗腎炎，抗菌等作用，並有保護肝臟，防止肝糖減少的作用。

2.7.5 主治

慢性衰弱症，中氣虛弱，體倦乏力，語音低微，脈微，中氣下陷之脫肛，子宮脫垂，內臟下垂，崩漏，周圍神經麻痺，腦血管中風後遺症之半身不遂，慢性風濕關節炎，肩關節周圍炎。氣血虛弱，凝滯不通之疼痛，血痺，表虛自汗。

急性慢性腎炎，肢體浮腫，蛋白尿，癰瘡，糖尿病(消渴)。

用法用量：10 20 公克 / 日；科學中藥：0.5 2.0 公克 / 日。可依病症與體質酌量增減使用量。

2.7.6 藥理

含 B-sitosterol(麥胚脂醇)，linoleic acid，linolenic acid 等物質。Radix astragali 之組成包括 isoflavonoids(等類黃鹼素)，saponins(植物皂素)，polysaccharides(多糖)，-aminobutyric acid (GABA)，及其他微量原素(trace element)。而 astragaloside IV 常用來做為定量分析之標計(marker)(9) 近代科學家對黃耆的藥理作用和化學成分進行廣泛的研究，分析黃耆主要含有蔗糖、葡萄糖醛酸、粘液質、氨基酸、苦味素、膽鹼、甜菜鹼、葉酸等。

2.7.7 臨床方劑之運用

回顧以往典籍內含黃耆之方劑有：

醫王湯（脾胃論）

補中益氣湯（內外傷辨惑論）

痿證方（秘方集驗）

烏頭湯（金匱要略）

黃耆桂枝五物湯（金匱要略）

黃耆建中湯（金匱要略）

黃耆湯（外台秘要）

黃耆湯（直指小兒）

黃耆鱉甲散（太平惠民和劑局方）

歸耆建中湯（普濟本事方）

歸耆六君子湯（森田幸門）

歸脾湯（嚴氏濟生方）

桂枝加黃耆湯（金匱要略）

紫根牡蠣湯（徽癘新書）

十全大補湯（太平惠民和劑局方）

十味剉散（葉氏錄驗方）

十六味流氣飲（外科發輝）

參耆湯（萬病回春）

清署益氣湯（內外傷辨惑論）

清署益氣湯（醫學六要）

清心蓮子飲（太平惠民和劑局方）

千金內托散（備急千金要方）

大防風湯（太平惠民和劑局方）

大補黃耆湯（壽世保元）

托裡消毒飲（萬病回春）

托裡消毒飲（外科正宗）

當歸飲子（嚴氏濟生方）

當歸補血湯（蘭室秘藏）

當歸補血湯（醫學正傳）
當歸補血湯（萬病回春）
人參養榮湯（太平惠民和劑局方）
半夏白朮天麻湯（脾胃論）
防已黃耆湯（金匱要略）
防已茯苓湯（金匱要略）
牡丹皮散（外科正宗）
補陽還五湯（醫林改錯）
內托黃耆柴胡湯（試效方）
益氣養榮湯（外科樞要）
乳香黃耆散（外科正宗）

2.7.8 現代藥理作用研究

以現代醫理來說，黃耆對免疫調節，抗病毒，抗腫瘤，保護心肌，擴張血管，利尿、降低血糖等作用已有定論。許多實驗也證實了黃耆和黃耆多醣能使人體血中 IgM、IgE 顯著增加；能促進動物體內抗體合成，增強免疫功能。黃耆亦可延長細胞體外生長的壽命，改變細胞的營養和能量代謝，治療癌細胞的試管研究顯示，一些以黃耆精華治療的細胞，能多存活 50% 的時間。

有強心作用，能增強正常心臟的收縮，對中毒及疲勞的心臟作用更為顯著。有中度利尿及降壓的作用，能擴張冠狀血管及全身的末梢血管，因而使血壓下降，改善皮膚血液循環。臨床上作為利尿、降壓藥時，不宜單味使用，需配合相應的藥物，以治虛性的水腫和虛性高血壓，有一定的效果，口服或注射黃耆制劑均證明有強心利尿作用。有加強毛細血管抵抗力作用，可防止氯仿、組織胺或負壓所造成的毛細血管滲透性增加的現象，並能使 X 光線引起的毛細血管脆性增加的病理現象迅速復常。有止汗作用，能閉塞皮膚的分泌孔，抑制發汗過多。

大陸研究報告顯示，黃耆應用於降血糖處方中，有氣虛症狀者降血糖功效卓著。有消渴作用，黃耆能補氣、生津，氣津兩傷的糖尿病(俗

稱消渴症)，單用熬膏服用即有效。

黃耆注射液治療慢性遷延性和活動性肝炎，可使血清總蛋白和白蛋白增加，防止肝糖元減少，幫助損傷的肝臟。黃耆注射液用於貧血和慢性白細胞減少症，可增加血漿蛋白、血紅蛋白、紅血球。有保護肝臟防止肝糖元減少的作用。實驗結果表明黃耆煎劑使小鼠血漿 cAMP 含量升高，而肝臟 cAMP 含量有下降趨勢。

在美國，由於黃耆能增加機體免疫功能而受到相當重視，美國癌症研究中心經過多項研究，認為黃耆是無法估量的珍貴藥草。黃耆中萃取的有效成份，已成為結合傳統中藥研究、現代科技的跨國醫藥研發中心研發成功、上市的藥品。黃耆被証實可同時提升癌症病患在化學或放射治療後劇降的白血球、紅血球和血小板，因而使病患提升免疫力，改善體質和生活品質，被認為是輔助化學療法的抗癌輔助劑。

有類似性激素的作用。

根據最近文獻報導，黃耆已成為治療癌症和愛滋病這兩種疾病所需要的重要免疫調整劑，作為一種可以支援已經轉弱的免疫系統、可以強化人體內的干擾素系統的草藥，黃耆的療效還在不斷地有新的發現與肯定。已有幾千年歷史的黃耆，在現代醫療中逐漸佔有非常重要的地位。

近年來在國外的健康食品也逐漸加入黃耆作為主成份之一，以提供消費者以天然物藥品作為治療疾病的另一選擇。一般民眾都知道「當歸補血，黃耆補氣」，黃耆也是藥膳中最常用的中藥之一，由食物療法來改善體質，改善所有虛弱性所引起的疾病，達到補益脾胃、呼吸系統、提高免疫功能的效果。

在此介紹幾種方法供參考：

抗菌作用：體外實驗對葡萄球菌，溶性鏈球菌，肺炎雙球菌，白喉杆菌，志賀氏痢疾杆菌等均有抑制作用。

能興奮中樞神經系統，能增強網狀內皮系統的吞噬功能，提高抗病能力。

大白鼠口服大劑量黃耆粉對血清性腎炎的發病有阻抑作用，其蛋白尿定量顯著低於對照組。對氯化高汞所致的大鼠蛋白尿病，口服黃

耆粉能加速尿蛋白的消失。

按 黃耆功能補氣升陽，鼓舞正氣，溫運陽氣。因此，凡脾肺氣虛，陽氣下陷，表虛不固，自汗盜汗等症，均可用之。但本品功偏溫補，易于助火，故對氣滯濕阻，消化不良，或外瘍初起，表實邪盛者，不宜應用。據實驗研究，本品與黨參，靈芝，白朮等配合可提高網狀內皮系統吞噬功能，而有利于抑制癌細胞的生長。

2.7.9 現代研究^[97]

免疫抗體誘發的研究

黃耆對白血球：用 100% 黃耆注射液以 0.3 毫升 / 隻給小白鼠皮下注射 5 天，可使血液中的白血球及多核白血球顯著增加 ($p < 0.01$)。用黃耆防治慢性氣管炎時，用藥後白血球細胞吞噬指數上升。

網狀內皮系統：《本草備要》謂黃耆“生血、生肌、排膿內托，瘡癰聖藥”。《神農本草經》謂“主癰疽，久敗瘡 鼠瘻 小兒百病”。黃耆是治療氣虛瘡癰成膿不潰，或潰後久不斂口者，之常用藥，感染性疾病有氣虛者均用之，這與黃耆提高機體白血球細胞，及網狀內皮系統的功能有關。

以 I131 放射線同位素化血漿蛋白膠體液，給小白鼠靜脈注射，使用黃耆實驗組 I131 化血漿蛋白膠體液，於血液中擴清率快。

先給小白鼠靜脈注射炭粒“封閉”網狀內皮系統後，黃耆促進該系統恢復，停藥 8--12 天後，實驗組吞噬外來異物的功能明顯增高。未用碳末“封閉”的動物，黃耆的作用較不明顯，故知黃耆治療感染性疾病中的虛證療效較好的原因有如上述。

黃耆及當歸補血湯（黃耆、當歸）能顯著提高小白鼠腹腔及脾臟中巨噬細胞的功能，達到增升血球及巨嗜細胞之功能。在體外用小白鼠肺巨噬細胞加黃耆液後，其吞噬白色葡萄球菌的能力顯著增強。用黃耆給家兔肌肉注射 22 天後，肺部巨噬細胞數量增加 吞噬白色念珠菌的功能明顯增強，在電子顯微鏡下可見其表面皺褶和突起增多且長，溶酶體豐富，組織化學發現其琥珀酸脫氫酶和非特異性酯酶的活性增強，顯示黃耆能增強巨噬細胞代謝、運動和吞噬功能，因知黃耆

多糖是增強吞噬細胞吞噬功能的一種成分。

對干擾素的影響：

對 I 型副流行性感冒病毒 BB1 株感染的 28 次 1898 隻小白鼠的實驗中，用黃耆煎液灌服，與不用藥組比較，有很明顯的治療作用（ $P < 0.001$ ）。臨床上黃耆亦有防治感冒的作用。

對小白鼠用 BB1 病毒鼻腔攻擊用 NDV（新城雞瘟病毒）或用 NDV 腹腔注射，能誘生干擾素。但若用黃耆進行防治，則肺部及血清的干擾素顯著增加。

實驗還證明，黃耆不能直接刺激小白鼠產生干擾素，而是促進病毒誘生干擾素的能力。因此，易患感冒者服用黃耆後可以提高白血球細胞對（NDV 系減毒株）病毒誘生干擾素的能力（ $P < 0.01$ ），並與感冒次數的減少相平行。

用黃耆提取物加入人的適當稀釋臍血中，藉助於 NDV 誘導，對干擾素的產生有協同作用。但在體外時，0.05—0.4% 黃耆煎液加入 Swiss 小鼠脾細胞培養液中，則能誘生其產生 r-干擾素，故知黃耆能提高細胞對干擾素的敏感性。

用黃耆處理的人肺二倍體細胞，H3 摻入較對照組低（ $P < 0.01$ ），說明其對 RNA 代謝有抑制作用。由於某些大分子代謝抑制物質可參與超誘導機制而促進干擾素的誘生，黃耆也可能通過此機制而促進干擾素的誘生。

黃耆對環磷酸腺甘（cAMP）亦有影響作用，而適量的 cAMP，也有加強干擾素的作用。

由上可見黃耆防治感冒與它促進病毒誘生干擾素的作用密切相關。因為干擾素有抑制病毒繁殖的作用。《醫學啟源》謂黃耆“補肺氣，實皮毛”，肺氣旺盛，皮毛密實，則外邪難干擾，感冒及呼吸道感染減少，這可能與干擾素含量增高有關。

對黃磷酸腺甘及環磷鳥甘（cAMP 及 cGMP）的影響

提高人及小白鼠血漿中 cAMP 含量，但此種作用是多元化的，即是對機體不同狀況、不同臟器有著不同的影響。

給小白鼠灌服後，血漿及脾臟中的 cAMP 量上升，而肝臟中 cAMP

量下降；血漿中的 cGMP 量下降，而肝、脾臟中的 cGMP 量上升。

用黃耆及玉屏風散（黃耆、白朮、防風）給小白鼠灌服後，對脾臟 cAMP、cGMP、及 cAMP / cGMP 比值呈調節作用，即原基數高者下降，原基數低者上升，且與小白鼠免疫後脾臟溶血空斑數值（抗體生成細胞）有密切相關。

環核苷酸很可能是細胞水平對免疫功能的調節物質，而黃耆及玉屏風散對環核苷酸含量的影響，很可能是其調節脾溶血空斑數的一環。

適量的 cAMP 有加強抗體和干擾素的作用。

對抗體生成的影響：

某醫學院微生物組給小白鼠口服黃耆液，對免疫反應早期階段的脾臟抗原結合細胞（包括 T 細胞、B 細胞的前驅體細胞）有促進增生作用。

流行病防治所發現羊紅血球細胞免疫後的小白鼠的 19S 抗體產生增加，脾溶血空斑數增加或呈調節作用，此調節作用與脾臟中的 cAMP、cAMP / cGMP 的變化呈逆相相關，與 cGMP 的變化呈正相相關。

黃耆多糖是一有效成分，給小白鼠腹腔注射，能使脾臟顯著增大，表現為白髓擴大，成熟的漿細胞大量增生，胞漿內有大量粗面內質網，呈同心圓狀圍核排列；內質網的池範圍有不同程度擴張，脾內充滿中等電子密度的抗體蛋白質。

黃耆水煎醇沉上清液對小白鼠脾臟溶血空斑數及環核苷酸的含量亦呈調節作用。

黃耆給正常人口服，每日 16 克，連續 20 天，血漿 IgM 增加 ($p < 0.05$)，IgE 增加 ($p < 0.05$)，cAMP 亦增加。對這部分人中有虛證表現者臨床效果較好，副作用少，上述指標改變明顯；有實證表現者則效果較差、副作用較多，上述指標改變不明顯。如服至 40 天，則 IgG 亦明顯上升。

給 83 例慢性支氣管炎患者注射黃耆液 20 天後，血中 IgG、IgA、IgM 均顯著增加 ($p < 0.01$ - 0.001)。用黃耆治療慢性喘息型氣管炎患者，其痰液中 IgA / IgG 比值均增加，而且 IgA 及 IgA / IgG 的增加與

臨床好轉相一致。

對感冒易感染者服用黃耆或用黃耆液噴鼻後，鼻分泌液中 sIgA 明顯上升 ($p < 0.001$)。並且還證明，鼻分泌液中 sIgA 水平的波動與感冒的發病率之間呈平行關係。

黃耆促進鼻分泌液中 sIgA 的升高，能有效地防治感冒等多種呼吸道的感染，因而這也可能是“補肺氣，實皮毛”的原理之一。

對細胞免疫的影響：

黃耆對慢性氣管炎、慢性肝炎患者及健康人均有促進淋巴母細胞轉化的作用，其作用較大腸菌脂多糖為佳。用於治療慢性肝炎、哮喘、慢性肺原性心臟病等，均發現能增強細胞免疫功能。但對乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 陽性的捐血者的細胞免疫影響不大。

對細胞在體外生長的影響：

延長原代人胎腎細胞，原代金黃地鼠腎細胞，原代小鼠腎細胞及人胎肺二倍體細胞的壽命，使後者從自然衰老的 61 代延長到 88~98 代。對人胎腎細胞進行電子顯微鏡觀察，見髓樣結構明顯增加 (髓樣結構是次級溶酶體的形態，溶酶體是細胞各種水解酶的儲存池，能釋放各種消化酶)，糖原顆粒體增加，線粒體充滯型含各種物質豐富，組織化學見酸磷酸酶，琥珀酸脫氫酶反應及糖原反應明顯增強。

黃耆對 3 型鼻病毒，B B 1 株病毒，3 型腺病毒，濾泡性口腔炎病毒，NDV 病毒所誘致細胞的病變均有輕度抑制的作用，但黃耆對病毒無直接制滅活性作用。可見黃耆能增強細胞的生命力和抵抗力。黃耆的此種作用可能與細胞多種酶的合成和活性有關，一些酶可以保護細胞免受生物氧化過程中的損害。

抗腎炎作用：

口服大量黃耆粉，對大鼠腎毒血清腎炎有阻抑作用，使蛋白尿出現的陽性率，嚴重程度、腎臟病理改變等均低於對照組。亦能降低生理性尿蛋白量，使氯化汞性蛋白尿恢復加快。此外，用四氯化碳所致的家兔、小白鼠肝損傷，用黃耆或黃耆多糖治療，對肝損傷有保護作用。能增加小鼠體重及游泳時間。黃耆多糖能促進動物皮膚潰瘍的愈合。

以上述可見黃耆對免疫功能有廣泛而重要的影響，具有增強或調節的作用。

2.7.10 臨床應用

臨床應用上有很多的功用，如脾虛症、汗症、脾肺氣虛症、氣血兩虛症、瘡瘍、水腫、消渴症等。

用於多種原因所致的白血球細胞減少症

以 150%黃耆液每日 2 毫升肌肉注射，治療 53 例，7~17 天後，白血球細胞增加 1000 個 / mm³ 以上者，占 61.2%。

哮喘

用黃耆治療“虛喘”，現用黃耆液在足三里穴道注射，配合對症治療（不用特殊治療），用於經中、西醫治療效果不佳而多數有過敏史的小兒哮喘 41 例，每周 2 次，3 個月一療程，共用 3~4 個治療程，療程間停兩週，治後顯效率為 56.1%。其中伴有皮膚濕疹者顯著好轉，感染型哮喘症治療後感染明顯減少。治後的血清 IgG 及 IgA 上升，原全血及血漿粘度及血細胞值增加，紅血球細胞電泳減慢及微循環障礙等血瘀症候的改善，與其“通調血脈，流行經絡”的功效有關。用肌肉注射，治療小兒哮喘 51 例，26 例，血清 IgA，IgB 上升，抗體形成率增加，療效與免疫學指標的改善基本上是一致。

腎炎

單用黃耆治療腎炎效果不錯，配伍黨參能加速蛋白尿的恢復，單用或于原治療方案中，加用玉屏風散治療有反復感冒或慢性咽喉炎反復發作的腎炎患者 24 例，顯效 17 例，有效 6 例。咽喉炎 17 / 18 例好轉，19 例易感冒者感冒減少，免疫學指標改善：CH50，C3，RFC，IgG，IgA 低下者幾乎都恢復正常，對 IgM 起調整作用而復常。又防己黃耆湯，防己茯苓湯均為治腎炎的常用方，腎炎患者有氣虛症者黃耆幾乎必用。

萎縮性胃炎

用 100%黃耆液肌肉注射，每日 2 次，每次 2 毫升，共治 50 例，經 3 ~ 6 個月治療後，顯效 11 例，好轉 35 例。

B 型肝炎：對慢性肝炎中 B 型肝炎表面抗原（HBsAg）均陽性的 84 例患者，用 100% 黃耆液每日 4 毫升肌肉注射，陰性率 26.1%，程度下降率 23.2%。按中醫分型則對各型均有一定療效，其中以脾虛療效較好。

慢性 B 型肝炎

多數學者認為慢性 B 型肝炎是由于持續性病毒感染所致，而機體免疫功能低下或抑制性 T 細胞(Ts)缺陷是造成這種持續感染的原因；另一方面由于功能缺陷以致不能有效控制 B 細胞的免疫活性，B 細胞得以產生抗細胞膜抗體，持續發生自身免疫過程。而黃耆具有免疫促進作用，它可能是增強機體清除病毒的能力，或增強 Ts 的功能而間接地抑制或破壞肝細胞的自身免疫。

感冒

用黃耆製劑口服或噴鼻，對 5 批 219 易感冒者使用，同時以 398 人作對照觀察，結果預防效果顯著（ $p < 0.05 \sim 0.01$ ），用藥組發病者症狀亦較輕，病程縮短。用玉屏風散預防亦有相當效果。可見黃耆確實能起到扶正防邪的作用，這與本品對 sIgA 及干擾素產生及其它免疫功能的促進作用有密切的關係，故《本草正義》謂黃耆“固護衛陽充實表分，是其專長，所以表虛諸病，最為神劑。”

配合藥方

黃耆補益類單味藥之利用效果已如前述，有時還可加些其他補益類中藥如大棗、枸杞子、茶葉等當養生茶喝，這樣也是很有養生效果的。但懂中醫藥理的人當更能用復方來達到特殊調理疾病之目的。

本品配合黨參治療慢性腎炎的蛋白尿及糖尿病有效。

本品用於糖尿病：用黃耆 30 g、生地 30 g、山藥 90 g，水煎服，1 日 1 劑，可提高糖尿病的療效。

本品用於水腫病：黃耆 120 g、生薏苡仁 30 g、焦杜仲 30 g，治療慢性腎炎，能收到良好的效果。

本品治肺脾虛症：黃耆、黨參、茯苓、紫菀、陳皮配伍，如補脾湯。

本品用於盜汗(陰血虧損)：黃耆、當歸、生地、黃柏等藥配伍，

如當歸六黃湯。

本品治療氣血兩虛：黃耆、人參、當歸、柏子仁、五味子等配伍，
如養心湯。

第三章 材料與方法

3.1 實驗材料

3.1.1 矽膠管

實驗所用的矽膠管為 Helix Medical Silicone Tube , 內徑 1.47 mm , 外徑 1.96 mm , 購自 Helix Medical, Inc (USA)。

3.1.2 Collagen

Collagen 中膠原蛋白的濃度為 3 mg / ml , 為 99.9 % 的純化膠原蛋白。其中 95 - 98 % 為第一型膠原蛋白 , 其他為第三型膠原蛋白。其特色為中性的 Collagen 在 37 °C 時會產生凝膠作用(gelation)。而膠原蛋白濃度在 1.0 - 1.5 mg / ml 之間形成的膠狀物是透明的且容易破碎。本品購自 COHESION (USA)。

3.1.3 Astragaloside IV

Astragaloside 化學式為 $C_{41}H_{68}O_{14}$ (Astradiamant green Gx) , chemical constituent of astragali radix: I. Kitagawa, et al. chem.. pharm. Bull 31. 698 (1983). Fulka laboratory chemical reagents 2001/2002

3.1.4 Horseradish Peroxidase

3.1.5 Tetramethyl Benzidine

3,3',5,5'- Tetramethyl benzidine (TMB)化學式為 $C_{16}H_{20}N_2$, 分子量為 240.4, 為非致癌性 benzidine 類似物, 可作為 Horseradish Peroxidase 色原質 (chromogen) , 在光學顯微鏡下 , 可見到其與 Horseradish Peroxidase 反應後產生藍黑色顆粒狀(dark-blue granules)物質。本品購自 Sigma (Germany)。

3.1.6 Sodium Nitroferricyanide

Sodium nitroferricyanide 化學式為 $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，分子量為 298，外形為紅棕色顆粒狀。本品購自 Sigma (Germany)。

3.1.7 Toluidine Blue

Toluidine blue 化學式為 $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{SCl} + \text{ZnCl}_2$ 。它對神經組織中蛋白質的碳氧基有高度的親合力，因此，被廣泛用來當作神經髓鞘的染色劑，當以 Toluidine blue 染色時，髓鞘被染成深藍色，而髓鞘環內的軸突則呈現淡白色。實驗所用的 Toluidine blue 購自 Sigma(Germany)。

3.2 配置神經管

3.2.1 矽膠管

於無菌操作台中操作。準備矽膠管四十支，每支長 19 mm，前後各 2 mm 用於縫合，實際的間距長度為 15 mm。在管內長 15 mm 的間距，其體積為 $26.5 \mu\text{l}$ ，可供填入試劑。

再將矽膠管浸泡於 95% 酒精中消毒後，取出置於無菌培養皿中，每個培養皿放十支，後置於烘乾箱中烘乾，保存備用。

3.2.2 配藥

Collagen 溶液 在 10 ml 離心管中，分別加入 8 ml Collagen、1 ml 0.1 MPBS、1 ml NaOH，配成濃度 2.4 mg / ml Collagen 溶液，再利用 NaOH 或 HCl 調整 PH 值為 7.4 ± 0.2 ，置於 4 °C 冰箱備用

Astragaloside 溶液 取 $125 \mu\text{l}$ 濃度為 99.5 % 酒精置入含 25 mg astragaloside 瓶子中，待 astragaloside 溶解後，取 $25 \mu\text{l}$ astragaloside-酒精溶液置於 100 ml 血清瓶中，加入 76.6 ml MQ 水，配成 200 μM astragaloside 溶液，並個別取出 3 份 1 ml 400 μM astragaloside 溶液，分別加入 1 ml、3 ml、7 ml MQ 水，配成 3 管濃度分別為 100 μM 、50 μM 、25 μM astragaloside 溶液，配置完成後，將 200 μM 、100 μM 、50 μM astragaloside 溶液置於 4 °C 冰箱備用。

Horseradish Peroxidase 溶液 於內含 100 mg Horseradish peroxidase 瓶子中，加入 0.5 ml 0.9 % N / S，配成 20 % Horseradish peroxidase 溶液，之後，置於-20 冰箱中備用。

固定液 (1000ml) 於 1000 ml 血清瓶中，分別加入 95 ml 磷酸二氫鈉($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 27.6g / 1000 ml)(Katayama Chemical Co, Japan)，405 ml 磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4 28.2 g / 1000 ml) (Katayama Chemical Co, Japan) 20g 聚甲醛(Paraformaldehyde) 50 ml 戊二醛(Glutaraldehyde, 25 %) 及 450 ml RO 水，配成內含 2 % 聚甲醛及 1.25 % 戊二醛之 0.1 M 磷酸鹽緩衝液，之後，再利用 NaOH 或 HCl 調整 PH 值為 7.4，過濾，置於室溫中保存備用。

H_2O_2 溶液 於 100 ml 血清瓶中，加入 1 ml 30 % H_2O_2 及 99 ml RO 水，配成濃度為 0.3 % H_2O_2 水溶液，置於室溫下備用。

Neutral Red 水溶液 取 1 g Neutral red 粉末(Katayama Chemical Co, Japan)溶於 99 ml RO 水，配成 1 % Neutral Red 水溶液，再加入 0.2M, PH4.8 醋酸鈉緩衝液(sodium acetate buffer) 4 ml，過濾後，置於室溫下備用。

Glutaraldehyde 水溶液 於 100 ml 血清瓶中，分別加入 10 ml 25 % Glutaraldehyde 及 90 ml 0.1M PBS，配成 2.5 % Glutaraldehyde 水溶液，置於室溫備用。

3.3.試劑的配製與分組

第一組 Collagen ? (A ?)：於 10 ml 離心管內，置入先前配置好濃度為 2.4 mg / ml Collagen 溶液 1 ml，及 1 ml MQ 水，配置成內含 1.2 mg / ml Collagen 溶液。

第二組 astragaloside 25 μ M 組(B 組)：於 10 ml 離心管內，置入先前配置好濃度為 2.4 mg / ml Collagen 溶液 1 ml，及 50 μ M astragaloside 溶液 1ml，配置成內含 1.2 mg / ml Collagen 及 25 μ M astragaloside 混合溶液。

第三組 astragaloside 50 μ M 組(C 組)：於 10 ml 離心管內，置入先前配置好濃度為 2.4 mg / ml Collagen 溶液 1 ml，及 100 μ M

astragaloside 溶液 1 ml，配置成內含 1.2 mg / ml Collagen 及 50 μ M astragaloside 混合溶液。

第四組 astragaloside 100 μ M 組(D 組)：於 10 ml 離心管內，置入先前配置好濃度為 2.4 mg / ml Collagen 溶液 1 ml，及 200 μ M astragaloside 溶液 1 ml，配置成內含 1.2 mg / ml Collagen 及 100 μ M astragaloside 混合溶液。

在進行實驗前，將已配置完成之各組試劑置於 4 $^{\circ}$ C 備用。

3.4.實驗動物模式

實驗動物分組

雌性 Sprague-Dawley (SD) 大白鼠 40 隻，重量為 181 - 293 g，週齡為 7 - 12 週。

依神經管充? 試劑及濃度的不同而分為四組：Collagen? (A ?)、astragaloside 25 μ M 組(B 組)、astragaloside 50 μ M 組(C 組)、astragaloside 100 μ M 組(D 組)，每組各十隻 SD 大白鼠。

麻醉、消毒

手術前須先將大鼠麻醉，將大鼠置於透明麻醉箱中，利用氣體麻醉機(Forawick Vaporizer, Muraco Medical Co, Japan)麻醉，麻醉劑為 AErrane[®](Baxter, USA)，初起劑量為 5 litter/kg . min，待大鼠昏迷後，將大鼠自透明麻醉箱中取出，利用塑膠管輸送麻醉劑，此時麻醉劑量改為 2 litter/kg . min 且將此塑膠管套於大鼠口鼻中，持續給予麻醉，使其保持麻醉狀態。將大鼠予以右側躺及右膝蓋彎曲，以股骨頭(femur)的位置為中心，上下各約 3 cm 處，將大鼠臀部及大腿的毛剃掉，剃毛區以 Betadine[®](Mundipharma, Germany)自中心開始由內向外消毒。

坐骨神經神經管接合術

大鼠消毒完成後，術者先以拇指及食指找到大鼠右側之股骨頭上大轉子(greater trochanter of femur)及外側豆狀骨(lateral fabella)予以定位，並用刀片沿此兩點之連線劃開皮膚，鈍性分離股二頭肌(biceps femoris muscle)與筋膜，游離出長約 2.5 cm 的坐骨神經，在距梨狀肌(piriformis)下緣 8 mm 處，用剪刀整齊剪斷坐骨神經幹，取出已消毒之

神經管，以 9-0 Ethilon 縫線(Ethicon, USA)於神經管後端 2 mm 處先自神經管外側穿入，然後再穿過一方斷端之神經外膜，接著自神經管內側穿出，並以少許張力將神經幹斷端帶入神經管內 2 mm，最後於神經管外以單結固定，之後，利用微量注射器(Hamilton, USA)於 10 ml 離心管

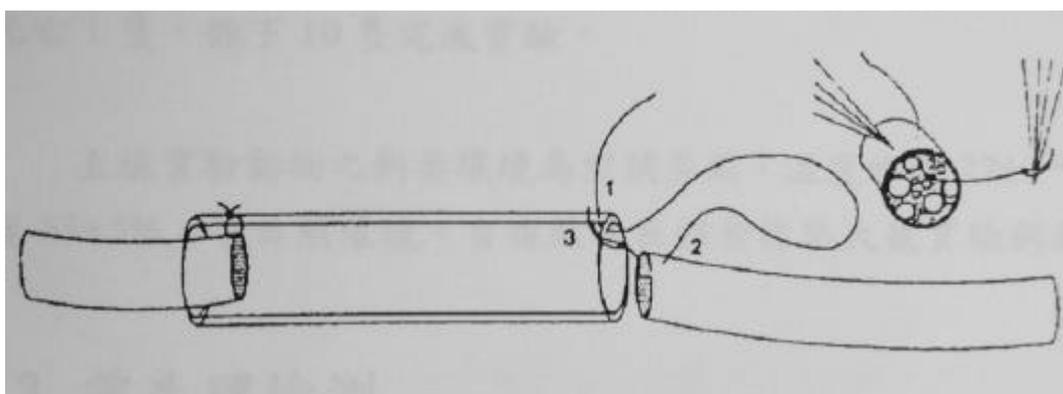


圖 3.1 神經斷端與矽膠管縫合的步驟。9-0 nylon 自矽膠管之外端穿入(1)，然後穿過斷端之神經外膜(2)，最後自矽膠管之內側穿出(3)，神經藉著少許張力帶入矽膠管內，並在矽膠管內的外側打結固定

中分別抽取各? 所需之 collagen 及 bilobalide 濃度 $26.5 \mu\text{l}$ 緩慢注入神經管中 (圖 3.1)，注射完畢後，再將坐骨神經另一方斷端亦如前述步驟將其固定於神經管前端 2 mm 處，兩斷端神經固定後，實際神經間距為 15 mm。神經與神經管縫合完畢後，將麻醉劑之流量改為 1 litter/kg . min，並以 4-0 Catgut chrom (B Braun, KG)縫合肌肉及皮膚。之後，再將麻醉劑之流量改為 0.5 litter/kg . min，使大鼠持續麻醉 5 分鐘，目的在使神經管中之溶液有充足的時間凝結，避免大鼠醒後因其活動而使溶液從神經管中流出。手術完畢後，測量大鼠體重，並將大鼠置回籠子，照光維持體溫，等待動物甦醒。以抗生素 Pamoxicillin[®] (內含 Amoxicillin Trihydrate 1.5 gm/60ml, 聯邦化學製藥股份有限公司, Taiwan) 1 g 溶解於 100 ml RO 水中，當作二天份之水給予自由飲水，預防傷口感染。

動物飼養環境

實驗動物之飼養環境為空調房間，一個塑膠籠子飼養一隻大鼠，溫度維持 22 ± 3 ，相對溼度 $55 \pm 5\%$ ，半日照環境，自由飲水及餵養標準大鼠實驗飼料（福壽公司，台灣）。

3.5 觀察實驗大鼠外表之變化

八星期內，在上述飼養環境中飼養大鼠，並觀察大鼠的飲食、大小便、傷口、毛色、重量變化、足趾足跟、活動情形等。

3.6 觀察神經再生情形

於術後八星期，將大鼠麻醉、剃毛、Betadine[®]消毒後，術者定位出大鼠右側之股骨頭上大轉子及外側豆狀骨，沿此兩點之連線用刀片劃開皮膚，鈍性分離股二頭肌與筋膜，以肉眼觀察神經管內是否有再生的神經組織。若神經管內有再生神經組織，則進一步將附於脛骨(tibia)上之股二頭肌及腓腸肌(gastrocnemius)鈍性分離出來，之後，進行電生理檢測及 Horseradish Peroxidase 逆行回流測試。若神經管內無再生神經組織，則直接利用 4-0 Catgut chrom 縫合肌肉及皮膚，待 48 小時後，予以灌流及解剖。

3.7 電生理檢測

在以肉眼觀察神經管內有再生神經組織後，分離出附於脛骨之股二頭肌、腓腸肌以及附著於坐骨神經分支周圍之脂肪層，並以誘發電位儀 (Neuropack Four Mini, Nihon Kohden Co, Japan) 作為神經肌肉複合動作電位之誘發，其步驟如下：以正負紀錄電極(recording electrode) 分別插入神經管遠端之腓腸肌肌腱及肌腹處，另將刺激電極(stimulating electrode) 置於神經管近端，在刺激電極釋放出相同電流刺激(4mA)後，經過再生神經組織的傳導，於誘發電位儀上可顯示神經肌肉複合動作電位波形，紀錄並計算出其產生肌肉複合動作電位之 Latency 1、Latency 2、Base-to-Peak、Peak-to-Peak 之值。

3.8 Horseradish Peroxidase 逆行回流試驗 (Horseradish Peroxidase Retrograde Test)

完成電生理檢測後，找到坐骨神經分支-脛神經(tibial nerve)，利用止血鉗夾住脛神經 1 分鐘後，再以微量注射器抽取 20% Horseradish

Peroxidase (HRP) 5 μ l, 將針頭插入之前止血鉗夾過之脛神經處, 緩慢地將 HRP 注入脛神經, 待 HRP 完全進入脛神經後, 將針頭維持在原處約 1 分鐘, 使 HRP 充分被神經所吸收, 再將針頭拔出。接著再以 4-0 Catgut chrom 縫合肌肉及皮膚。待 48 小時後, 先將大鼠秤重後, 以 chloral hydrate (0.1 ml/100g) 進行腹腔麻醉, 待麻醉後, 術者以食指定位出劍突軟骨(xiphoid cartilage)位置, 繼之以剪刀剪開此處皮膚, 打開胸腔, 以止血鉗夾住劍突軟骨, 將胸骨心包膜韌帶(sternal-pericardial ligament)剪開, 並沿著胸廓兩側將肋骨剪斷, 使前胸壁能夠上翻, 讓心臟裸露出來, 將灌流套管尖端插入心尖處, 輕輕地將套管尖端推入左心室, 先以 200 ml 0.9% 生理食鹽水注入心臟, 同時迅速將右心耳剪破, 讓血液從此處流出, 流出之液體由血色改為澄清時, 繼之以固定液 500 ml 固定 40 分鐘, 待大鼠身體肌肉僵硬後, 灌流即已完成。接著從大鼠背部找到最後一肋, 即第三浮肋(floating rib), 循著這一肋找到其所連接之脊椎, 此椎為胸椎第十三椎 (T13), 將其附近的毛剃除後, 剪開皮膚及斜方肌(trapezius)、腹斜肌(obliquus abdominis), 上下游離出 T12、T13、L1, 以骨鉗將此三椎椎板剪開, 接著取出位於椎板底下之脊髓, 此即為坐骨神經細胞體的位置所在(L4、L5、L6)。取出脊髓後, 置入相同固定液內再固定二小時, 接著移入 30% 蔗糖溶液中, 置於 4 $^{\circ}$ C 冰箱中過夜。隔天, 將脊髓右側朝上, 以 Cryomatrix (Shandon, USA) 包埋, 置於 -80 $^{\circ}$ C 冰箱快速冷凍包埋, 之後, 以冷凍切片機(Shandon, USA) 縱切成厚度 50 μ m 的切片, 所得之切片置於 0.1M PBS(PH7.2) 中, 放入 4 $^{\circ}$ C 冰箱 24 小時。之後, 以 RO 水清洗切片 6 次 (每次 15 30 秒), 接著, 於 19 $^{\circ}$ C 23 $^{\circ}$ C 將切片浸泡於以下混合液 20 分鐘:

A 溶液包含: (1) 92.5 ml RO 水.

(2) 100 mg Sodium nitroferricyanide.

(3) 5 ml 0.2 M, PH 3.3 Sodium acetate buffer

(Katayama Chemical Co, Japan)

B 溶液包含: (1) 5 mg TMB

(2) 2.5 ml absolute ethanol (Showa chemical INC, Japan)

使用前將 A 溶液加於 B 溶液中混合。之後，於 19-23℃，加入 2-4 ml 0.3 % H₂O₂ 作用 20 分鐘，作用完成後，在 4℃ 下，用 1:19 Sodium acetate buffer-RO 水清洗 6 次（每次 15-30 秒），將切片儲存於相同的 Sodium acetate buffer-RO 水中，但不要超過 4 小時，接著，將切片移至 Superfrost® Plus 載玻片上(Menzel-Glaser, Germany)，陰乾 4 小時至 7 天，之後，以 1 % Neutral Red 水溶液對比染色 2.5 分鐘，再分別置於 RO 水 10 秒、70 % ethanol 10 秒、95 % ethanol 10 秒、100 % ethanol 10 秒二次，最後浸泡於 xylene 2-5 分鐘二次，後於切片上滴上封片膠 (Assistent, Germany)，並蓋上蓋玻片(Menzel-Glaser, Germany)，置於光學顯微鏡下觀察。

3.9 評估健、患側腓腸肌重量比

大鼠灌流完成後，再將健、患側股二頭肌剝離後，以剪刀將附著於股骨內外上髁(medial、lateral epicondyle of femur)之腓腸肌內外側肌腱及附著於跟骨結節(tuber calcaneus)上之肌腱完整取下，置於微量天秤下稱重，並紀錄之。

3.10 再生神經組織切片型態觀察

大鼠灌流完成後，將神經管內再生的神經組織連同神經管取下，浸泡於 2.5 % Glutaraldehyde 水溶液三天，取出內有再生神經之神經管，將其等分為三等分，利用刀片分別去除前後三分之一，留下中間三分之一的部分置於 2.5 % Glutaraldehyde 水溶液中，再將再生神經組織以含 2.5 % Glutaraldehyde、4 % Paraformaldehyde 及 0.1M cacodehyde 混合液固定約 1-2 日，隨即將神經以 1 % OsO₄ 後固定約二小時，之後，以 50-100 % 酒精脫水，再以 Sparr 樹脂包埋，並將含再生神經組織之樹脂置入 60-70℃ 烤箱中約 16 小時，待樹脂硬化。隨後將包埋之再生神經組織作橫向 1 μm 切片後，以 Toluidine blue 染色，當組織切片染色後，髓鞘與 Schwann cell 會明顯呈色。對再生神經組織切片的觀察重點如下

(1) 再生神經整體結構是否完整，神經外膜、圍神經膜以及神經內膜是否以長成，(2) 在神經內膜中是否有髓鞘化軸突生成，或者大部分組織中仍只有纖維母細胞或 Schwann cell 而已，(3) 血管於再生

神經組織中是否已形成。

3.11 組織學定量分析

對再生神經組織切片先以接於顯微鏡的數位相機(Nikon Coolpix 950, Japan)拍下數位影像，再利用彩色影像分析軟體(Image-Pro Lite Version 3.0, Media Cybernetics, USA)作計算，再以試算軟體 EXCEL 2000 作分析。計算與分析切片的再生神經的全部面積、神經內膜面積、神經軸突數目、神經軸突平均面積、神經軸突密度、神經軸突面積百分比、再生血管數目、再生血管總面積、再生血管面積百分比。

拍攝照片

顯微鏡 40 倍下，拍下再生神經組織切片全景。顯微鏡 400 倍下，可清楚看到髓鞘化軸突，其適合影像分析軟體與計算再生神經組織中髓鞘化軸突數。

神經全部面積計算方式

將切片置於 40 倍顯微鏡下，以數位相機拍攝影像，再以電腦圈選神經外膜周圍，電腦會自動計算出整個神經全部面積。

神經內膜面積的計算方式

將切片置於 40 倍顯微鏡下，以數位相機拍攝影像，再以電腦圈選神經內膜周圍，電腦會自動計算出整個神經內膜全部面積。

神經軸突數目的計算方式

將切片置於 400 倍顯微鏡下，隨機選取神經內膜中央及周圍各二個四方形區塊，以數位相機拍攝影像，再以電腦圈選此四塊區域內神經軸突數及此四塊區域面積。如此，就可以此四塊區域為基準，依比例計算出神經內膜內含之神經軸突數。

神經軸突平均面積的計算方式

同神經軸突選取之四塊區域，算出此四塊區域內所有的軸突面積（不含髓鞘）後，除以四塊區域內軸突數目，即為軸突之平均面積。

神經軸突密度的計算方式

將神經軸突數除以神經內膜面積。

神經軸突面積百分比的計算方式

將神經軸突面積除以神經內膜面積，再換算為百分比。

再生血管數目的計算方式

將切片置於 400 倍顯微鏡下，以數位相機拍攝所有再生神經組織形態，再逐一計算出所有圖片所含之血管數目。

再生血管總面積的計算方式

將切片置於 400 倍顯微鏡下，以數位相機拍攝所有再生神經組織形態，再逐一計算出所有圖片所含血管之面積。

再生血管面積百分比的計算方式

將再生血管總面積除以神經全部面積，再換算為百分比。

第四章 結果

4.1 矽膠管觀察與神經再生比率

神經管接合手術八週後，再次手術觀察矽膠管內生長的情形。麻醉及手術方法如前，使植入大白鼠的神經管暴露。四十隻老鼠沒有死亡發生。其巨觀結果觀察如下(nerve cable)：

Collagen 組，二隻可見一白色再生管狀物通過。

Collagen+25 μ M astragaloside 組，十隻大鼠沒有生長成功。

Collagen+50 μ M astragaloside 組，十隻大鼠，沒有死亡。五隻在神經管中可見一白色再生管狀物通過。

Collagen+100 μ M astragaloside 組，十隻大鼠，沒有死亡。三隻在神經管中可見一白色再生管狀物通過。

神經組織再生的成功率

神經管內除有白色再生管狀物通過者外，其組織切片呈現有意義神經組織再生成功。各組的成功率如下：

Collagen (control)組為 0% ；

Collagen+25 μ M astragaloside 組 0% ；

Collagen+50 μ M astragaloside 組 40% ；

Collagen+100 μ M astragaloside 組 10% ；

4.2 切片觀察

首先分辨再生神經組織的生長階段。有些已經形成成熟的神經幹結構，可以觀察的完整的神經外膜、圍神經膜，神經內膜，Schwann 細胞包圍的神經纖維及血管。但許多仍處於不成熟的階段。

實驗使用的 Toluidine blue 染色可以清楚的觀察觀察 Schwann 細胞的形態，依 Schwann 細胞在神經管內的形態，將切片分為三類。

無神經組織細胞

再生組織仍處於早期階段。纖維橋的階段，內有纖維母細胞、白血球、紅血球等。有的切片較纖維橋的階段成熟，數層向心狀排列的纖維母細胞圍繞著纖維橋的核心區。沒有血管組織與神經組織細胞 (Schwann 細胞與軸突)，神經外膜、圍神經膜與神經內膜尚未形成。

Schwann 細胞柱

大部分仍由纖維組織佔據，有些再生組織中央仍有纖維橋。由 Toluidine blue 染色，可以看到 Schwann 細胞具有中密度的細胞質和一個卵圓形、及白的細胞核。這時的 Schwann 細胞仍未髓鞘化。已有血管形成，以及神經外膜，圍神經膜，神經內膜等結構。

髓鞘化軸突形成

形成許多髓鞘化軸突。各個髓鞘化軸突的面積大小不一，組織已有血管形成，以及神經外膜，圍神經膜，神經內膜等結構。各個再生組織，依髓鞘化的軸突密度高低不同，再生組織的成熟度有所差別。

各組切片觀察

Collagen 組中，二隻大鼠有無神經組織細胞的類型。

Collagen+25 μ M astragaloside 組 0%，無白色再生管狀物通過。

Collagen+50 μ M astragaloside 組 40%，四隻大鼠有再生神經組織 (C2, C4, C7, C9)，切片都為形成髓鞘化軸突的類型(圖 4.14 至 4.16)，切片內有 Schwann 細胞、髓鞘化或非髓鞘化的軸突，另外已形成血管、神經外膜、圍神經膜與神經內膜等結構。

Collagen+100 μ M astragaloside 組 10%，一隻大鼠有再生神經組織 (D1)，切片都為形成髓鞘化軸突的類型(圖 4.14 至 4.16)，切片內有 Schwann 細胞、髓鞘化或非髓鞘化的軸突，另外已形成血管、神經外膜、圍神經膜與神經內膜等結構。

再生神經中髓鞘化軸突個數與軸突面積

再生神經的再生過程以神經纖維髓鞘化為最終的階段，也代表著再生神經組織漸驅成熟。所以，觀察各個切片中髓鞘化軸突的表現，

做為再生神經組織成熟與否的指標。

利用影像分析系統與試算軟體，計算與分析組織切片的再生神經組織的切面全面積、髓鞘化軸突的數目、髓鞘化軸突的面積、計算面積、髓鞘化軸突的平均面積、髓鞘化軸突的面積總和與計算面積總和比、髓鞘化軸突密度，結果如表 4.5 所示。

軸突面積分佈圖

有髓鞘化軸突的切片中，髓鞘化軸突的面積與大小的分布圖。

4.3 肌電圖

肌電圖結果

本實驗四組結果，觀察有白色再生管狀物通過者，視為神經組織再生成功。各組會於第二次手術中，以肌電圖來檢視，結果：

Collagen (control)組為 20 % ; denervation

Collagen+25 μ M astragaloside 組 0% ; denervation

Collagen+50 μ M astragaloside 組 50% ; denervation

Collagen+100 μ M astragaloside 組 30% ; denervation

4.4 評估健、患側腓腸肌重量比

所有動物之患側皆呈肌肉萎縮，即使神經管呈現良好之軸索再生，其可能原因是因為飼養時間不夠，加上沒有配合復健運動，故其效果於肌肉復原上來不及呈現。

4.5 Horseradish Peroxidase 逆行回流試驗 (Horseradish Peroxidase Retrograde Test)

由於飼養時間不夠長，神經再生成熟度不夠，加上注射染劑之位置於 tibial 神經，其屬於坐骨神經之遠端分枝，故逆行回流試驗之 HRP 能通過此接合管會無法呈現。

第五章 討論

5.1 Wallerian degeneration

Wallerian degeneration 對受傷周圍神經之休復，扮演重要的角色，神經再的第一步是先退化(degeneration)清除受傷組織後，再休復增生(regeneration)。巨嗜細胞(macrophage)與退化過程有關，於周圍神經受傷後可於軸索遠處斷端發現，Wallerian degeneration 發生時，斷端遠處會由近心端開始崩解，並連續進行至遠心端，而斷端近處則會逆行性退化(retrograde degeneration)至最近斷端一個蘭氏結(node of Ranvier)停止。繼 Wallerian degeneration 後，軸突生長，再神經化(reinnervation)及成熟化(maturation)，是受傷後神經休補一連串之過程。前兩個過程，需經由血行供應之吞噬細胞及許旺細胞(Schwann cell)來達成。(17)雖然遠處斷端之變化對受傷神經之休復有重要意義，但其中所表示的是細胞(cellular)及體液(humoral)因子之作用；接近神經之環境(near nerve environment)如營養、氧氣、促進因子，其對軸突再生並非單獨獨立存在。然而，吞噬細胞之出現對軸索再生，進入無細胞之神經段落時，接近神經之環境是很重要的。(17)

5.2 影響神經再生之因子

促進神經再生因子之家族成員，如神經生長因子(NGF nerve growth factor)、腦源性促神經再生因子(BDNF brain derived neurotrophic factor)，這些都由神經組織而來，並由軸索逆行運送至組織。(22)

除此之外，其餘促神經再生因子尚有纖毛狀促神經再生因子 ciliary neurotrophic factor (CNTF)，胰島素樣生長因子 insulin-like growth factor (IGF)-1，及白血病抑制因子 leukemia inhibitory factor (LIF)，以上因子皆非由神經組織而來，如許旺細胞即非神經組織，但是於神經再生時，非神經組織仍扮演重要角色；周圍神經受傷時，蛋白質及傳訊 RNA (m-RNA)之神經生長因子之濃度會進行性之上升。非神經之許旺細胞，於受傷後，斷端之離心段，其 NGF 濃度會明顯上升；

然而，纖毛狀促神經再生因子 ciliary neurotrophic factor (CNTF)濃度於軸索切斷後其濃度會下降。

巨嗜細胞對促神經因子(neurotrophic factors)如：神經生長因子(NGF)、胰島素樣生長因子 insulin-like growth factor (IGF)-1 其作用之調節和表現，對周圍神經之再生有廣泛的影響。巨嗜細胞對 cytokines 之釋出如今 interleukin (IL)-1 有間接正調節作用，或直接促進促神經因子(neurotrophic factors)。

研究發現巨嗜細胞是移動限制因子(migration inhibitory factor) (MIF)之主要來源，. 巨嗜細胞 MIF 是第一個被報導的 lymphokine 可避免巨嗜細胞隨便移行並將其限制於微血管內。 .

IL-1, IL-6,及腫瘤壞死因子- (tumor necrosis factor (TNF)-) 存有促神經生長活性(neurotrophic activity.)，於周圍神經系統，大部分的 cytokines 是由許旺細胞製造而來，而且對於受傷後之神經之退化-再生期(degeneration-regeneration period)有正調節作用(up-regulation)。

移動限制因子(migration inhibitory factor) (MIF)的功能在於前發炎 (pro-inflammatory) cytokine 及免疫調節(immunoregulatory) cytokine. , MIF 強化後而由巨嗜細胞分泌誘發腫瘤壞死因子- (tumor necrosis factor (TNF)-) 並提升一氧化氮(promote nitric)製造進而協同干擾素- (IFN-)。

於受傷神經之遠心段，於許旺細胞之 MIF 作用下，吞噬神經髓鞘殘骸。令一方面，MIF 同時辨識出近心節段之軸索(神經組織)及許旺細胞(非神經組織)。 (22)

於工具樣接受器 TLR (Too-like receptors)活化後幾分鐘內，Cytokines 開始作用於巨嗜細胞本身。但是經過此媒介後，免疫系統由先天 innate 反應轉變成後天 adaptive 反應，經由與病原相關分子行模型 PAMPs (pathogen-associated molecular patterns)與它們相對應 TLRs 結合後，會導致 interleukin 12 (IL-12)釋出，. IL-12 為誘導免疫系統由先天 innate 反應轉變成後天 adaptive 反應之 cytokine 。

巨嗜細胞經 IL-12 刺激後，進而由其 subset of T lymphocytes (CD4+), 分化成 TH1 helper cells , 它會製造干擾素- (IFN-) . Helper

T cell 也會分化成 TH2 cells , 但此步驟須 IL-4 介入。於神經成份中 , TH1 助發炎 (pro-inflammatory) 和 TH2 抗發炎 (anti-inflammatory) cytokines 之平衡 , 對神經休復有很大影響。 (20)

第六章 結論

實驗如何判斷成功之神經再生？巨觀之纖維長成，顯微組織呈現之神經組織：軸索、血管、許旺細胞之密度，肌電圖呈現，萎縮肌肉之再生，甚至由神經遠端注射 HRP 染劑於脊髓標計，都可以用於評估實驗結果，並用來定性及定量分析。

巨觀之纖維長成：Collagen (control)組為 20 %；Collagen+25 μ M astragaloside 組 0%；Collagen+50 μ M astragaloside 組 50%；Collagen+100 μ M astragaloside 組 30%；顯微組織呈現之神經組織：軸索、血管、許旺細胞之密度 astragaloside 有增強促神經突突出的作用。動物實驗中，Collagen+50 μ M astragaloside 組的再生神經最好；Collagen+100 μ M astragaloside 組再生神經也已成熟但成功率低。肌電圖呈現，萎縮肌肉之再生，但可能因時間之關係，八周之時間，雖有部分確定神經長成，但神經之成熟化、復健之有無、皆會影響結果。神經遠端注射 HRP 染劑於脊髓標計，結果都沒標記發現，除了注射處脛神經是坐骨神經是之其中之一分枝，神經之成熟化之不完整也是其原因。結論為 astragaloside 可促進周圍神經再生。astragaloside 影響神經發育與再生的機轉，或是與神經營養因子的相互作用值得進一步探討。其可能機轉，應與巨嗜細胞引發之過程有關。

參考文獻

1. Lars B. Dahlin: Prevention of macrophage invasion impairs regeneration in nerve grafts. *Brain research* 679 pp. 274-280, 1995.
2. Y. Yoshida, M.Q. Wang, J.N. Liu, B.E. Shan, U. Yamashida.: Immunomodulation activity of Chinese medicinal herbs and oldenlandia diffusa in particular: *Int. J. Immunopharmac.* Vol. 19, No. 7, pp. 359-370.
3. Jerry R. Rittenhouse, Paul D. Lui, Benjamin H. S. Lau: Chinese medicinal herbs reverse macrophage suppression induced by urological tumors. *The Journal of Urology.* Vol. 146, 486-490.
4. Benjamin H. S. Lau, Peck Ong, Jeff Tosk: Macrophage chemiluminescence modulated by Chinese medicinal herbs *Astragalus membranaceus* and *Ligustrum lucidum*. *Phytotherapy research*, Vol.3 , No. 4 148-153, 1989.
5. Dennis J. McKenna, Kerry Hughes, Kenneth Jones: *Astragalus*. *Alternative therapies.* Nov/Dec Vol. 8. No. 6 34-40. 2002.
6. Asa Fex Svenningsen, Martin Kanje: Regulation of Schwann cell proliferation in cultured segments of adult rat sciatica nerve. *Journal of neuroscience research* 52: 530-537. 1998.
7. Yoshio Goshima, Yukio Sasaki, Takashi Nakayama, Takaaki Ito, Toru Kimura: Functions of Semaphorins in axon guidance and Neuronal regeneration. *Jpn J. Pharmacol.* 82, 273-279, 2000.
8. Terence M. Myckatyn, Ramsey A. Ellis, Aaron G. Grand, Subhro K. Sen, James B. Lowe, III, Daniel A. Hunter, R.T. Susan, Mackinnon: The effects of Rapamycin in Murine peripheral nerve isografts and allografts. *Plastic and reconstructive surgery*, June, 2405-2417.
9. Xia Q. Ma, Q. Shi, J. A. Duan, Tina T. X. Dong, Karl W. K. Tsim: Chemical analysis of *Radix Astragali* (Huanggi) in China: a

- comparison with its adulterants and seasonal variations. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4861-4866, 2002.
10. Afshin Mosahebi, Paul Fuller, Mikael Wiberg, Giorgio Terenghi: Effect of allogeneic Schwann cell transplantation on peripheral nerve regeneration. *Experimental neurology* 173, 213-223, 2002.
 11. Y-S Chen, C-H Wu, C-H Yao, C-T Chen: Ginsenoside Rb 1 enhances peripheral nerve regeneration across wide gaps in silicone rubber chambers. *The international Journal of artificial organs.* Vol. 25, No. 11, pp. 1103-1108. 2002.
 12. Sebastian Jander, Friederike Lausberg, Guido Stoll: Differential recruitment of CD8+ macrophages during Wallerian degeneration in peripheral and central nervous system. *Brain pathology* 11: 27-38, 2001.
 13. Erdal Bedir, Nirmal Pugh, Ihsan Calis, David S. Pasco, Ikhlas A. Khan: Immunostimulatory effects of cycloartane-type Triterpene Glycosides from *Astragalus* species. *Biol. Pharm. Bull.* 23(7) 834-837, 2000.
 14. Hsin-Lin Cheng, Ann Randolph, Douglas Lee, Patrick Delafontaine, Gihan Tennekoon, Eva L. Feldman: Characterization of insulin-like growth factor-I and its receptor and binding proteins in transected nerves and cultured Schwann cells. *Journal of neurochemistry*, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996 international society for neurochemistry p525-536.
 15. Peter Scherman, Goran Lundborg, Martin Kanje, Lars B. Dahlin: Neural regeneration along longitudinal polyglactin sutures across short and extended defects in the rat sciatic nerve. *J. Neurosurgery* 95: 316-323.
 16. Michal Schwartz, Orly Lazarov-Spiegler, Otto Rapalino, Ivgenia Agranov, Gad Velan, Moshe Hadani.: Potential repair of rat spinal cord injuries using stimulated homologous macrophages. *Neurosurgery*, Vol. 44, No. 5, May 1999.

17. Jesper Sorensen, Kare Fugleholm, Mihai Moldovan, Henning Schmalbruch, Christian Krarup: Axonal elongation through long acellular nerve segments depends on recruitment of phagocytic cells from the near-nerve environment electrophysiological and morphological studies in the cat. *Brain research* 903(2001) 185- 197.
18. Samuel David, Steve Lacroix: Molecular approaches to spinal cord repair. *Annu. Rev. Neurosci.* 2003. 26: 411-40.
19. Yueh-Sheng Chen: Effects of Buyang Huanwu Decoction on Peripheral Nerve Regeneration Using Silicone Rubber Chambers. *American Journal of Chinese Medicine* Vol 29, No. 2 Institute for advanced research in Asian Science and Medicine
20. Cheryl A. Copelman, Lara T. Diemel, Djorje Gveric, Norman A. Gregson and M. Louise Cuzner: Myelin phagocytosis and remyelination of macrophage-enriched central nervous system aggregate cultures. *Journal of Neuroscience research* 66: 1173-1178 (2001)
21. Cheryl A. Copelman, Lara T. Diemel, Djorje Gveric, Norman A. Gregson and M. Louise Cuzner: Myelin phagocytosis and remyelination of macrophage-enriched central nervous system aggregate cultures. *Journal of Neuroscience research* 66: 1173-1178 (2001)
23. Rosen JM, Pham HN, Abraham G, Harold L. Hentz VR. Artificial nerve graft compared to autograft in a rat model. *Journal of Rehabilitation Research & Development.* 26(1):1-14. 1989.
24. Lundborg G, Kanje M. Bioartificial nerve grafts. A prototype. *Scandinavian Journal of Plastic & Reconstructive Surgery & Hand Surgery.* 30(2):105-10. 1996.
25. Hoppen HJ, Leenslag JW, Pennings AJ, van der Lei B, Robinson PH. Two-ply biodegradable nerve guide: basic aspects of design. construction and biological performance. *Biomaterials.* 11(4):286-90, 1990.
26. Nicoli AN, Perego G, Cella GD, Maltarello MC, Fini M, Rocca M,

- Giardino R. Effectiveness of a bioabsorbable conduit in the repair of peripheral nerves. *Biomaterials*. 17(10):959-62, 1996.
27. Borkenhagen M, Stoll RC, Neuenschwander P, Suter UW, Aebischer P. In vivo performance of a new biodegradable polyester urethane system used as a nerve guidance channel. *Biomaterials*. 19(23):2155-65, 1998.
 28. Santos X, Rodrigo J, Hontanilla B, Bilbao G. Evaluation of peripheral nerve regeneration by nerve growth factor locally administered with a novel system. *Journal of Neuroscience Methods*. 85(1):119-27, 1998.
 29. Rodriguez FJ, Gomez N, Perego G, Navarro X. Highly permeable polylactide-caprolactone nerve guides enhance peripheral nerve regeneration through long gaps. *Biomaterials*. 20(16):1489-500, 1999.
 31. Fields RD, Le Beau JM, Longo FM, Ellisman MH. Nerve regeneration through artificial tubular implants. [Review] [506 refs] *Progress in Neurobiology*. 33(2):87-134, 1989.
 32. 胡正利：針刺及電針對經矽膠管修護之截斷大鼠坐骨神經再生影響的評估。中國醫藥學院 碩士論文，台中，2000。
 33. Chen YS. Development of a multiple-lumen nerve cuff utilizing growth stimulant for controlled regeneration. Dissertation in Iowa State University, 1998.
 34. Robert M, Berne Matthew N. Levy. *Principles of Physiology*. International Student Edition. Wolfe Publishing Ltd., 1990; pp. 56-68
 35. Kingsley RE. *Concise text of neuroscience*. 2nd Edition. Lippincott Williams & Wilkins., 1999; pp. 1-90
 36. Marieb EN. *Human Anatomy & Physiology*. 4th Edition. The Benjamin/Cummings Science Publishing, 1998; pp362-403
 37. Haines DE. *Fundamental Neuroscience*. Churchill Livingstone Inc., 1997; pp.1-8
 38. Liveson JA. *Peripheral Neurology: case studies in electrodiagnosis*. 2nd Edition. Info Access & Distribution Pte Ltd., 1992.

39. Pansky B, Allen DJ, Budd GC. Review of Neuroscience. 2nd Edition. Macmillan Publishing Company, 1988; pp.55-59
40. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins Pathologic Basis of Disease. 6th Edition. W.B. Saunders Company, 1999.
41. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Molecular Cell Biology. 4th Edition. W. H. Freeman and Company. 1999; pp. 849, 913, 1002-1053
42. Lundborg G. Nerve Injury and Repair. Churchill Livingstone Inc., 1988; pp. 1-277
43. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology 3rd Edition: Nerve Tissue; Chapter 9, .
44. Snell RS. Clinical neuroanatomy for medical student. Little Brown, Boston, 1992.
45. Seddon H. Three types of nerve injury. Brain 66:237-288, 1943.
46. Seddon HJ. Peripheral nerve injuries. Medical Research Council Special Report Series 282. Her Majesty's Stationery Office, London, 1954.
47. Seddon H Surgical disorders of the peripheral nerves. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1972.
48. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. Brain 74:491-516, 1951.
49. Sunderland S. Nerves and nerve injuries, 2nd edn. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1978.
50. Bungner O.V. Uber die Degeneration-und Regenerationsvorgange am Nerven nach Verletzungen. Beitr. Pathol. Anat. 10:321-387, 1891.
- 51.清、張隱菴集註：醫學醫學大成[一] 黃帝內經素問集注，上海科學技術出版社，上海 1992.
- 52.清、張隱菴集註：醫學醫學大成[二] 黃帝內經靈樞集注，上海科學技術出版社，上海 1992.
- 53.任應秋、劉長林編：內經研究論叢，湖北人民出版社，湖北 1982, pp.

85-90.

54. 莊宏達：內經新解，志遠書局，台北 四版 1993, pp. 211.
55. 丁繼華主編：傷科集成，中醫骨傷科學，人民衛生出版社，北京 1999, pp.147-1691.
- 56.張安偵、武春發主編：中醫骨傷科學，人民衛生出版社，北京 1988, pp. 1-656.
57. 隨、巢元方：諸病源侯論，國立中國醫藥研究所，台北 三版 1981, pp. 145-147.
58. Wilgis EF, Maxwell GP. Distal digital nerve grafts: clinical and anatomical studies. *Journal of Hand Surgery - American Volume.* 4(5):439-43, 1979.
59. Edshage S. Peripheral nerve suture. *Acta Chirurgica Scandinavica Supplement* 331:1-104, 1964.
60. Kutz JE. Shealy G. Lubbers L. Interfascicular nerve repair. *Orthopedic Clinics of North America.* 12(2):277-86, 1981.
61. Millesi H. Interfascicular nerve grafting. *Orthopedic Clinics of North America.* 12(2):287-301, 1981.
62. Kuderna H. Die fibrinklebung peripherer Nerven. In: Nigst H(ed) *Nervenwiederherstellung nach traumatischen Lasionen.* Bibliothek fur Handchirurgie. Hippokrates Verlag, Stuttgart 78-94, 1985.
63. Millesi H. Nerve grafts: indications, techniques and prognosis. In: Omer G. Spinner M(ed) *Management of peripheral nerve problems.* Saunders W. B. Philadelphia 410-430, 1980.
64. Weiss P, Davis H. Pressure block in nerves provided with arterial sleeves. *Journal of Neurosurgery* 6:269-286, 1943.
65. Matson D.D. Alexander E. Weiss P. Experiments on the bridging of gaps in severed peripheral nerves of monkeys. *Journal of Neurosurgery* 5:230-248,1948.
66. White J. C. Hamlin H. New uses of tantalum in nerve suture, control of neuroma formation and prevention of regeneration after thoracic

- sympathectomy. Illustration of technical procedures. *Journal of Neurosurgery* 2:402-413, 1945.
67. Azzam NA, Brightman MW. Regeneration of central nervous system axons into an acellular tube in the absence of distal tissue. *Experimental Neurology*. 89(3):634-44, 1985.
68. Campbell J.B, Bassett C.A.L, Girado J.M, Seymour R.J, Rossi J.P. Application of monomolecular filter tubes in bridging gaps in peripheral nerves and for prevention of neuroma formation. *Journal of Neurosurgery* 13:635-637, 1956.
69. Nyilas E, Chiu TH, Sidman RL, Henry EW, Brushart TM, Dikkes P, Madison R. Peripheral nerve repair with bioresorbable prosthesis. *Transactions - American Society for Artificial Internal Organs*. 29:307-13, 1983.
70. Rosen JM, Padilla JA, Nguyen KD, Siedman J, Pham HN. Artificial nerve graft using glycolide trimethylene carbonate as a nerve conduit filled with collagen compared to sutured autograft in a rat model. *Journal of Rehabilitation Research & Development*. 29(2):1-12, 1992.
71. Den Dunnen WF, Van der Lei B, Schakenraad JM, Blaauw EH, Stokroos I, Pennings AJ, Robinson PH. Long-term evaluation of nerve regeneration in a biodegradable nerve guide. *Microsurgery*. 14(8):508-15, 1993.
72. 中醫方劑對經矽膠管修獲之截斷大屬坐骨神經再生影響之評估，鄭文強，碩士論文，2000。
73. Le Beau JM, Ellisman MH, Powell HC. Ultrastructural and morphometric analysis of long-term peripheral nerve regeneration through silicone tubes. *Journal of Neurocytology*. 17(2):161-72, 1988.
74. Williams LR, Longo FM, Powell HC, Lundborg G, Varon S. Spatial-temporal progress of peripheral nerve regeneration within a silicone chamber: parameters for a bioassay. *Journal of Comparative Neurology*. 218(4):460-70, 1983.

75. Madison RD, Da Silva CF, Dikkes P. Entubulation repair with protein additives increases the maximum nerve gap distance successfully bridged with tubular prostheses. *Brain Research*. 447(2):325-34, 1988.
76. Chen YS, Hsieh CL, Tsai CC, Chen TH, Cheng WC, Hu CL, Yao CH. Peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers filled with collagen, laminin and fibronectin. *Biomaterials*. 21(15):1541-7, 2000.
77. Davis GE, Manthorpe M, Varon S. Parameters of neuritic growth from ciliary ganglion neurons in vitro: influence of laminin, schwannoma polyornithine-binding neurite promoting factor and ciliary neuronotrophic factor. *Brain Research*. 349(1-2):75-84, 1985.
78. Manthorpe M, Varon S, Adler R. Neurite-promoting factor in conditioned medium from RN22 Schwannoma cultures: bioassay, fractionation, and properties. *Journal of Neurochemistry*. 37(3):759-67, 1981.
79. Longo FM, Hayman EG, Davis GE, Ruoslahti E, Engvall E, Manthorpe M, Varon S. Neurite-promoting factors and extracellular matrix components accumulating in vivo within nerve regeneration chambers. *Brain Research*. 309(1):105-17, 1984.
80. Bailey SB, Eichler ME, Villadiego A, Rich KM. The influence of fibronectin and laminin during Schwann cell migration and peripheral nerve regeneration through silicon chambers. *Journal of Neurocytology*. 22(3):176-84, 1993.
81. Woolley AL, Hollowell JP, Rich KM. First place--Resident Basic Science Award 1990. Fibronectin-laminin combination enhances peripheral nerve regeneration across long gaps. *Otolaryngology - Head & Neck Surgery*. 103(4):509-18, 1990.
82. Campenot RB. Development of sympathetic neurons in compartmentalized cultures. II. Local control of neurite survival by nerve growth factor. *Developmental Biology*. 93(1):13-21, 1982.

83. Heumann R, Korsching S, Bandtlow C, Thoenen H. Changes of nerve growth factor synthesis in nonneuronal cells in response to sciatic nerve transection. *Journal of Cell Biology*. 104(6):1623-31, 1987.
84. Nja A, Purves D. The effects of nerve growth factor and its antiserum on synapses in the superior cervical ganglion of the guinea-pig. *Journal of Physiology*. 277:55-75, 1978.
85. Gundersen RW, Barrett JN. Characterization of the turning response of dorsal root neurites toward nerve growth factor. *Journal of Cell Biology*. 87(3 Pt 1):546-54, 1980.
86. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor: its role in growth, differentiation and function of the sympathetic adrenergic neuron. *Progress in Brain Research*. 45:235-58, 1976.
87. Chen YS, Wang-Bennett LT, Coker NJ. Facial nerve regeneration in the silicone chamber: the influence of nerve growth factor. *Experimental Neurology*. 103(1):52-60, 1989.
88. Bu SS, Li JR, Hu CZ, Zhao YF. The influence of exogenous nerve growth factor on inferior alveolar nerve regeneration in silicone tubes. *Chinese Journal of Dental Research*. 2(3-4):44-8, 1999.
89. Cajal S.R.y. *Degeneration and Regeneration of the Nervous System*. Hafner. London, Facsimile of the 1928 Edition, 1928.
90. Varon S, Skaper SD. The Na⁺, K⁺-pump may mediate the control of nerve cell by nerve growth factor. *Trends in Biochemical Science* 8:22-25, 1983.
91. Ebadi M, Bashir RM, Heidrick ML, Hamada FM, Refaey HE, Hamed A, Helal G, Baxi MD, Cerutis DR, Lassi NK. Neurotrophins and their receptors in nerve injury and repair. [Review] [240 refs] *Neurochemistry International*. 30(4-5):347-74, 1997.
92. Jenq CB, Coggeshall RE. The effects of an autologous transplant on patterns of regeneration in rat sciatic nerve. *Brain Research*. 364(1):45-56, 1986.

93. Danielsen N, Muller H, Pettmann B, Williams LR, Davis GE, Engvall E, Manthorpe M, Varon S. Rat amnion membrane matrix as a substratum for regenerating axons from peripheral and central neurons: effects in a silicone chamber model. *Brain Research*. 467(1):39-50, 1988.
94. Morris JH, Hudson AR, Weddell G. A study of degeneration and of regeneration in the divided rat sciatic nerve based on the electron microscopy, II. The development of the "Regeneration Unit". Edited by Bargmann W. Farner DS. Oksche A. Scharrer B. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie* 124:103-130, 1972.
95. Fields RD, Ellisman MH. Axons regenerated through silicone tube splices. I. Conduction properties. *Experimental Neurology*. 92(1):48-60, 1986.
96. 賴榮祥：各種黃耆及其相關藥製劑之應用，*生藥資訊* The bulletin of society of pharmacognosy. ROC. P. 25-33. April. Vol 4, 1996.
97. 黃瑞東：黃耆成分及藥理作用，*生藥資訊* The bulletin of society of pharmacognosy. ROC. P. 34-44. April. Vol 4, 1996.
98. 吳俊賢：內填人參皂？ Rb₁ 與神經生長因子混合物之矽膠管對截斷大鼠坐骨神經再生的影響，中國醫藥學院中國醫學研究所碩士論文，2001.

Effect of astragaloside on Peripheral Nerve Regeneration

Chun-Yuan Cheng, Yueh-Sheng Chena, Chien-Ju Liua,

Abstract

The present study provides in vivo trials of silicone rubber chambers filled with different concentrations of astragaloside (0, 25, 50, 100 μ M) to bridge a 15 mm sciatic nerve defect in rats. Collagen was also filled in the chambers to prevent the astragaloside from leakage. Histological and electrophysiological techniques were used to evaluate the functional recovery of the nerve. At the conclusion of 8 weeks, animals from the group treated with the astragaloside, especially at the concentration of 50 μ M, had a higher rate (40%) of successful regeneration across the wide gap and a significantly larger number of myelinated axons. However, the high dose astragaloside (100 μ M) completely reversed this positive effect of growth-promoting capability and inhibited nerve regeneration. Only 10% of the animals treated with the high dose astragaloside had regenerated cables within the silicone rubber chambers. The low dose astragaloside (25 μ M) and control groups are no growth. These results indicated that astragaloside could be involved in both positive and negative effects on regenerating nerves. Therefore, whether a proper dosage of astragaloside is used or not plays a critical factor in deciding if it can sustain nerve regeneration over long gaps.

We used this *Astragalus membranaceus*(AM) as the material of this study is according to the Buyang Huanwu Decoction, the component *Astragalus membranaceus* (AM) is around 40%. (19) Review the literatures of astragaloside on peripheral nerve regeneration no direct evidence on this issue. The possible mechanism macrophage played the role. Macrophage induced degeneration process of the injured nerve, the cytokine and some growth factor also recruit for the regeneration procedure.

Key words: astragaloside ; Silicone rubber chamber; Peripheral nerve regeneration

附 錄

table 1 各組再生神經組織之基本資料

	Axon No. (#)	mean axon area (um ²)	endo area (mm ²)	total area (mm ²)	Axon density (#/mm ²)	Percentage of total axon area Endo Area (%)	B.V. number (#)	B.V. area (um ²)	Percentage total B.V. area nerve Area (%)
A3			0.054	0.095			25	6990.39	
A4			0.066	0.087			29	2393.34	
C1			0.001	0.006					
C2	5725	6.33	0.31	0.36	18567.70	12%	81	5496.55	
C4	11537	6.10	0.51	0.27	22472.12	14%	67	15315.58	
C7	4461	7.95	0.21	0.24	21110.49	17%	22	3992.06	
C9	10909	7.13	0.60	0.66	18035.82	13%	81	9701.94	
D1	2746	9.66	0.25	0.28	11146.91	11%	70	8161.41	
D6			0.038	0.069					
D7			0.003	0.019					

Table2 各組實驗之資料

	pre- op BW	Pot- op BW	nerve grow	EMG	L't m	R't mP	HR
A-1	248	280	negative	negative	2.02	0.56	
A-2	278		positive?	negative	2.15	0.67	don
A-3	205	253	negative	negative	1.82	0.36	
A-4	274	292	negative	negative	1.61	0.77	
A-5	227	263	pus	negative	1.52	0.36	
A-6	247	275	pus	negative	1.74	0.62	
A-7	205	252	pus	negative	1.79	0.57	
A-8	235	265	pus	negative	1.59	0.62	
A-9	205	260	pus	negative	1.69	0.7	
A-10	225	252	pus	negative	1.57	0.62	
B-1	206	262	pus	negative	1.8	0.36	
B-2	221	274	pus	negative	1.81	0.2	
B-3	195	249	pus	negative	1.36	0.26	
B-4	218	287	pus	negative	1.73	0.43	
B-5	203	261	pus	negative	1.67	0.29	
B-6	230	285	pus	negative	1.95	0.21	
B-7	211	261	pus	negative	1.67	0.25	
B-8	232	280	pus	negative	1.7	0.21	
B-9	183	239	pus	negative	1.26	0.27	
B-10	181	226	pus	negative	1.51	0.25	
C-1	225	270	negative	negative	1.69	0.35	
C-2	252	302	positive	positive	1.94	0.67	don
C-3	293	310	negative	negative	2.08	0.6	
C-4	261	316	positive	positive	2.19	0.715	don
C-5	208	310	negative	negative	1.88	0.44	
C-6	220	319	negative	negative	2.02	0.43	
C-7	270	288	positive	positive	1.97	0.63	don
C-8	206	232	negative	negative	1.47	0.26	
C-9	227	224	positive	positive	1.68	0.77	don

C-10	241	261	negative	negative	1.57	0.62	
D-1	266	246	positive	positive	1.81	0.57	don
D-2	272	306	negative	negative	1.785	0.425	
D-3	230	287	negative	negative	1.57	0.78	
D-4	219	246	negative	negative	1.63	0.46	
D-5	232	259	negative	negative	1.67	0.77	
D-6	202	253	positive	positive	1.64	0.69	don
D-7	228	247	positive	positive	1.77	0.61	don
D-8	266	293	negative	negative	1.78	0.5	
D-9	226	263	negative	negative	1.52	0.44	
D-10	236	288	positive?	positive	2.16	0.72	don

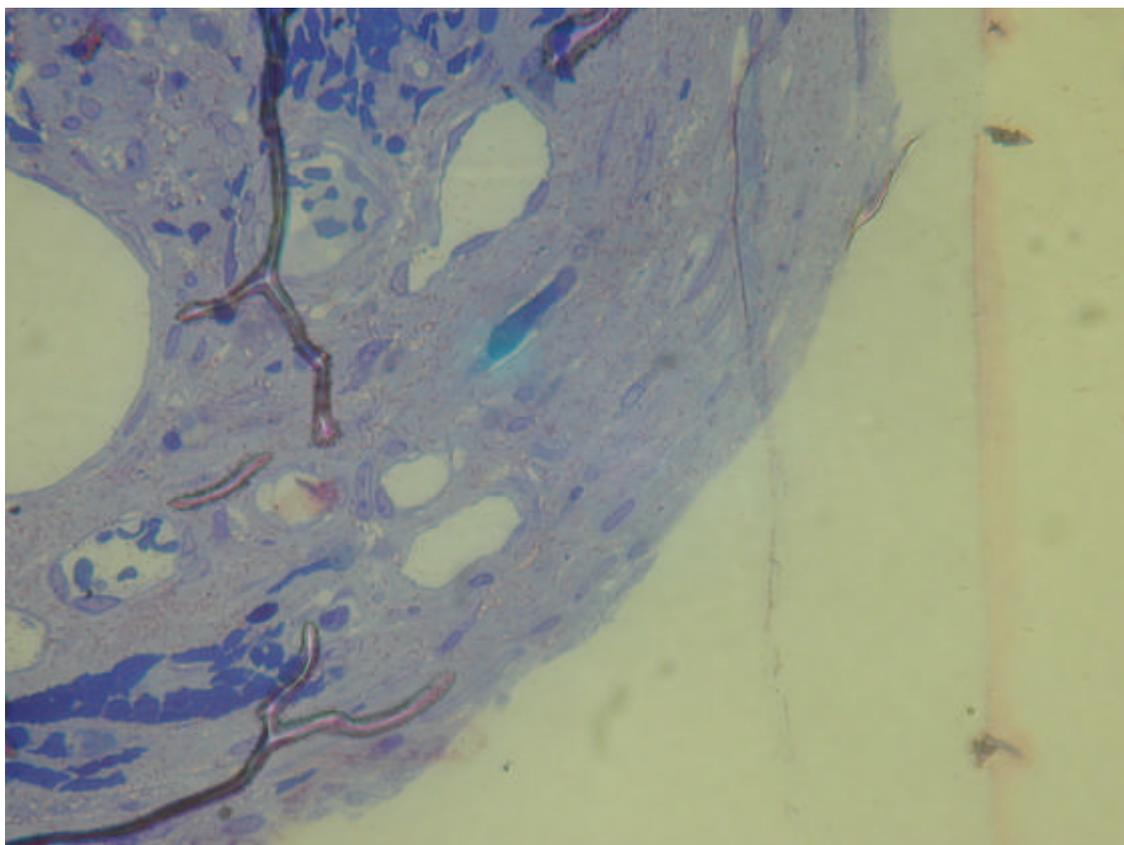


圖 1. A-3

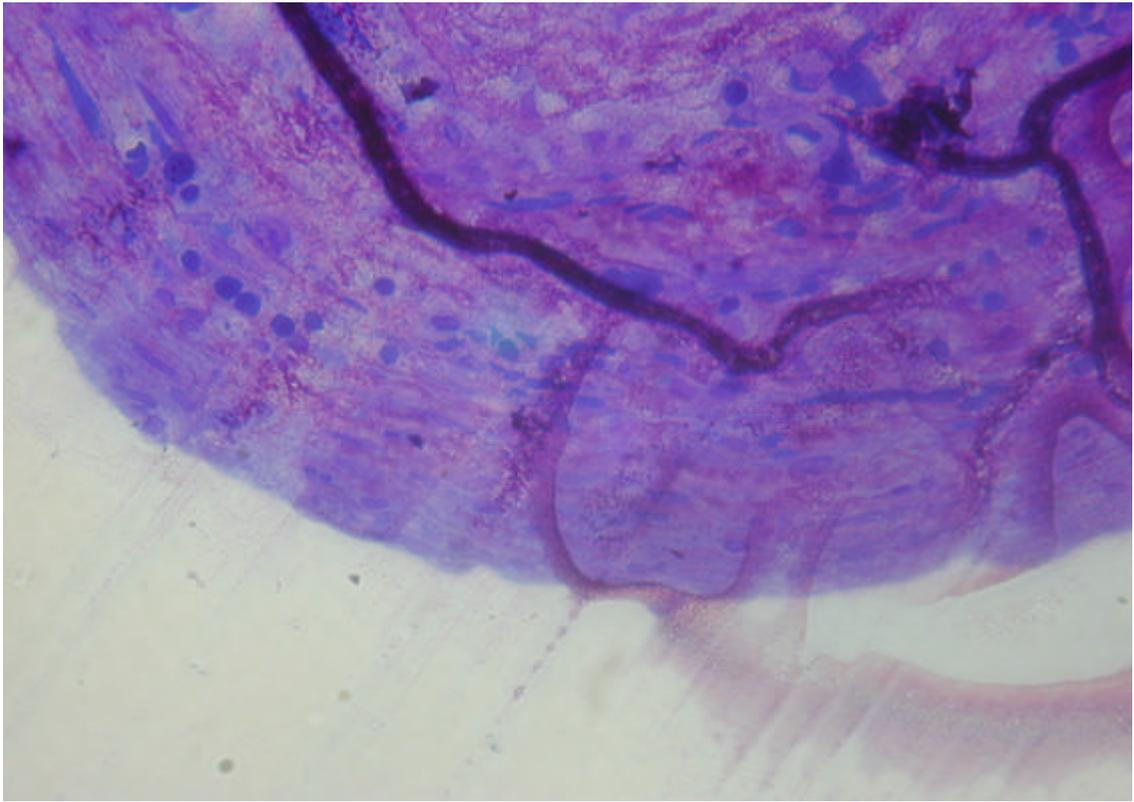


圖 2 A-4

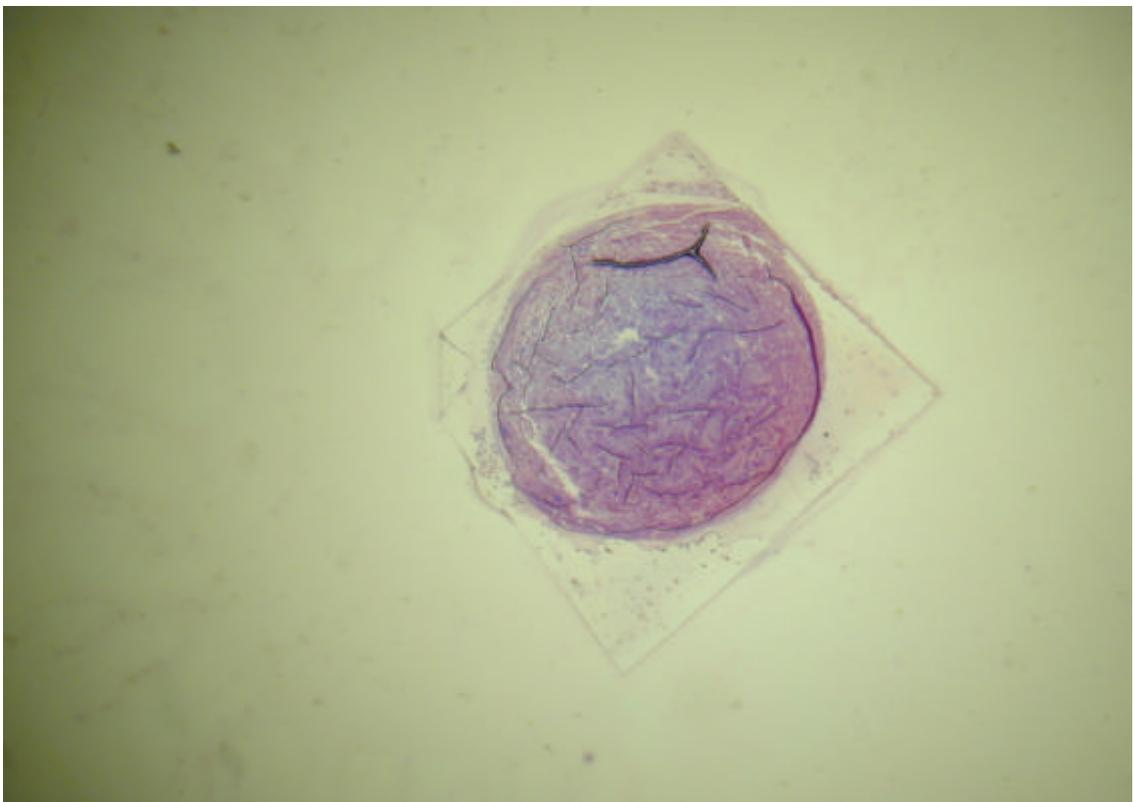


圖 3 B-2 40X

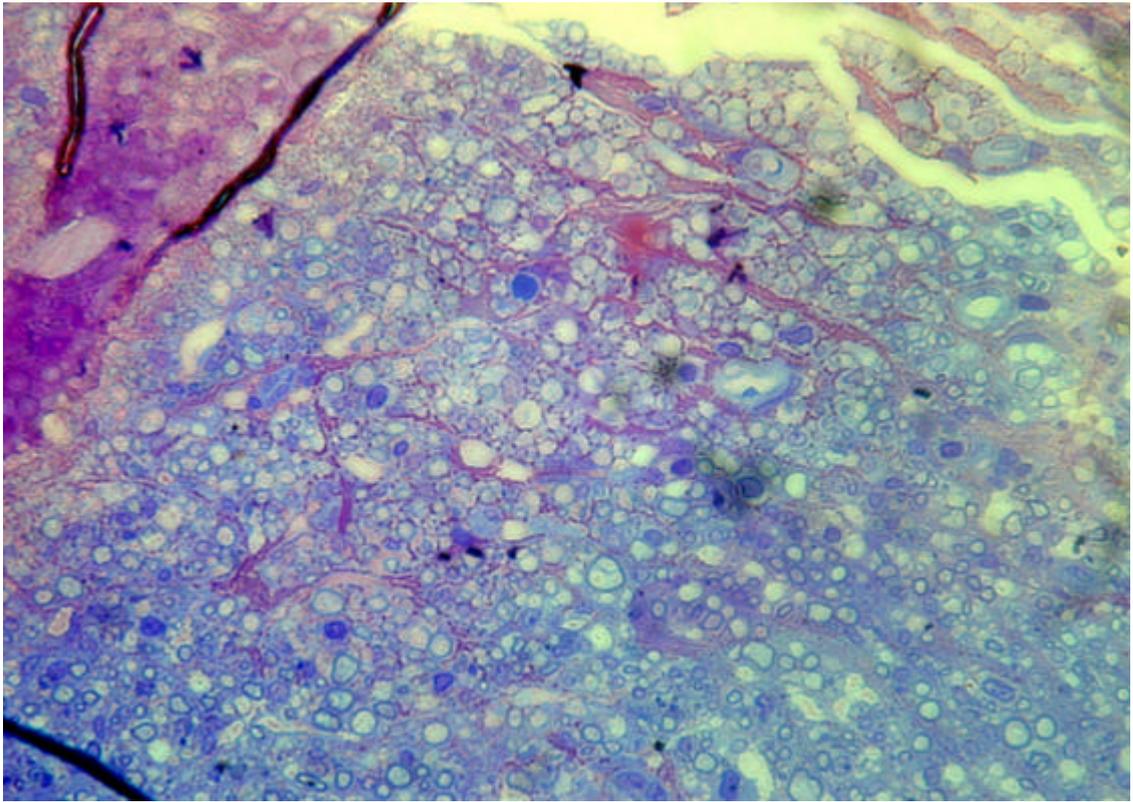


圖 4 B-2 400X

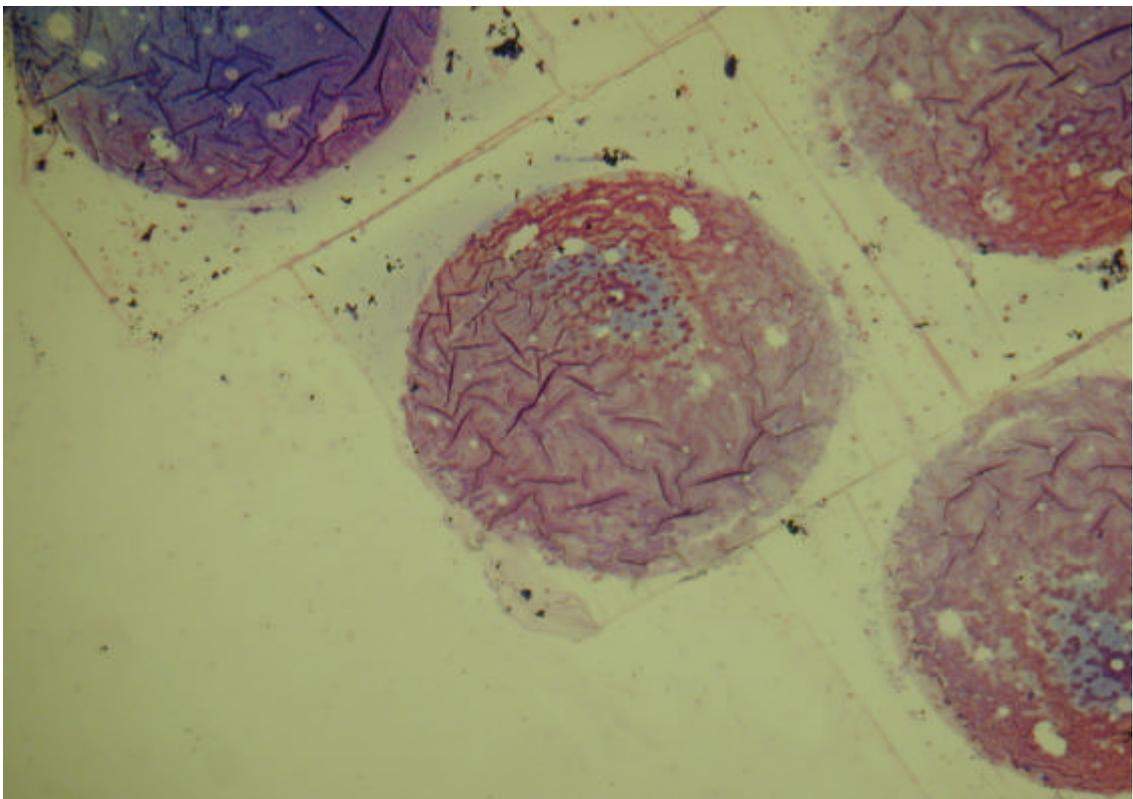


圖 5 B-4 40X

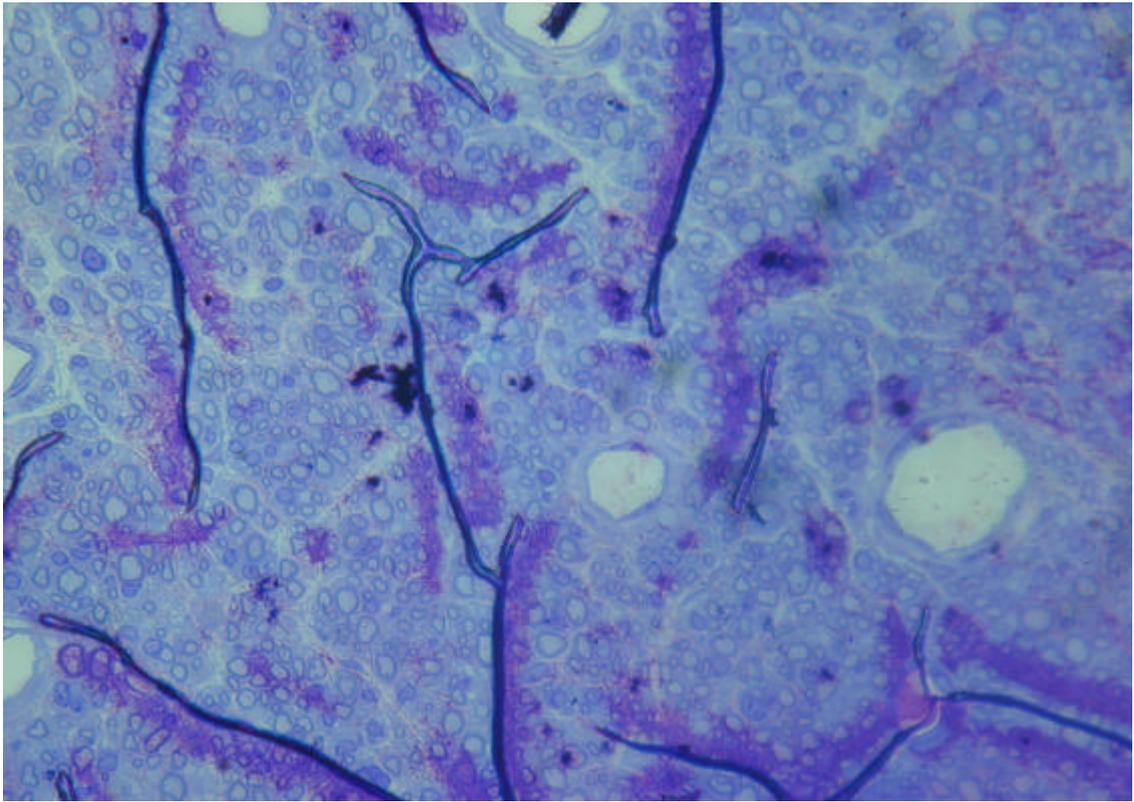


圖 6 B-4 400X

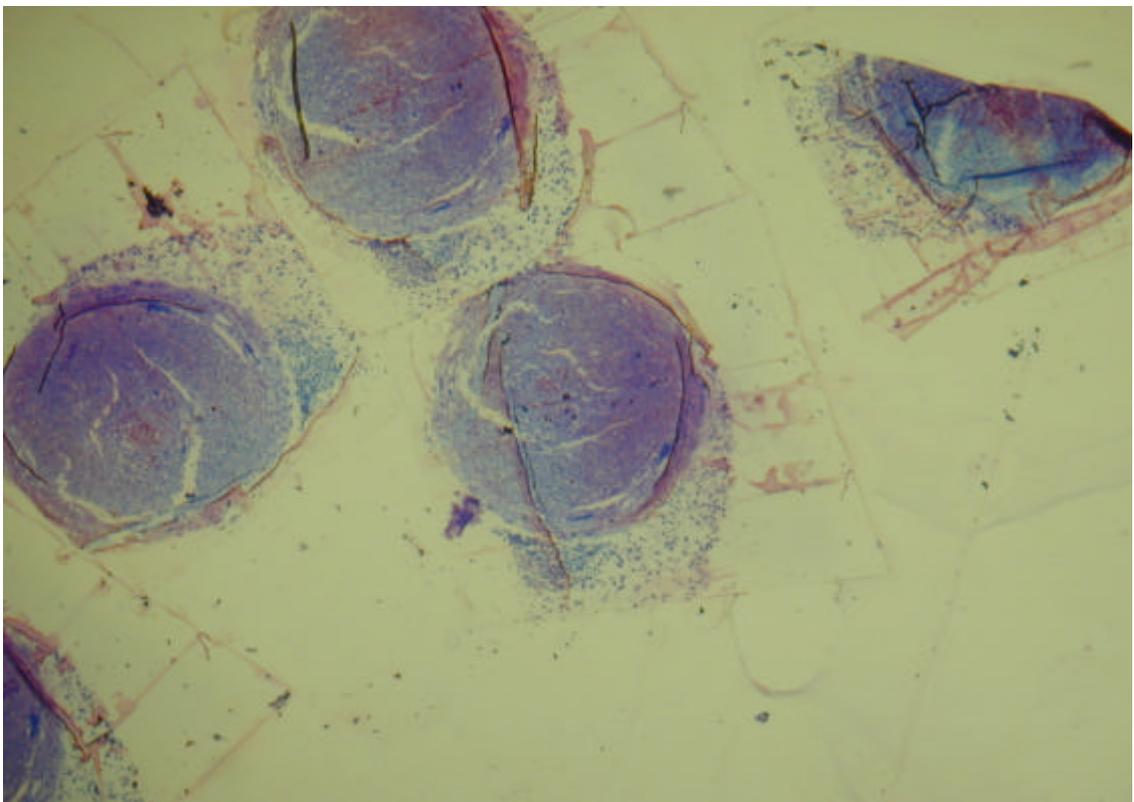


圖 7 B-7 40X

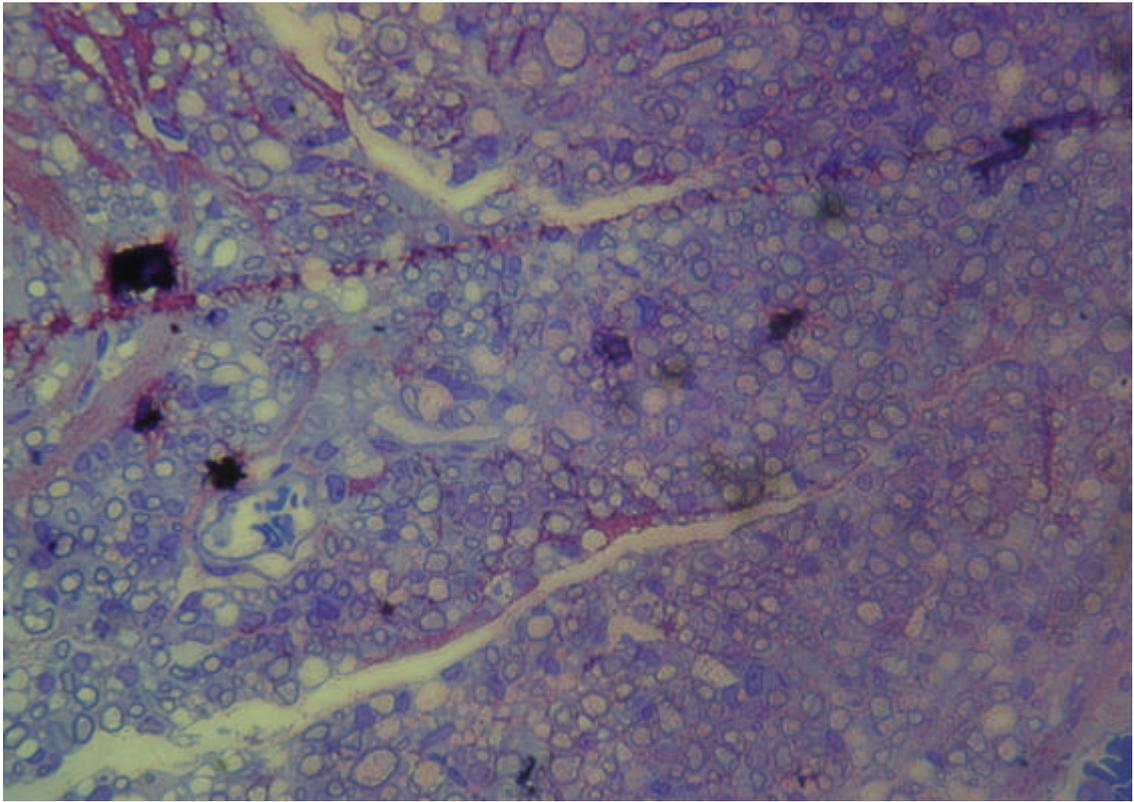


圖 8 B-7 400X

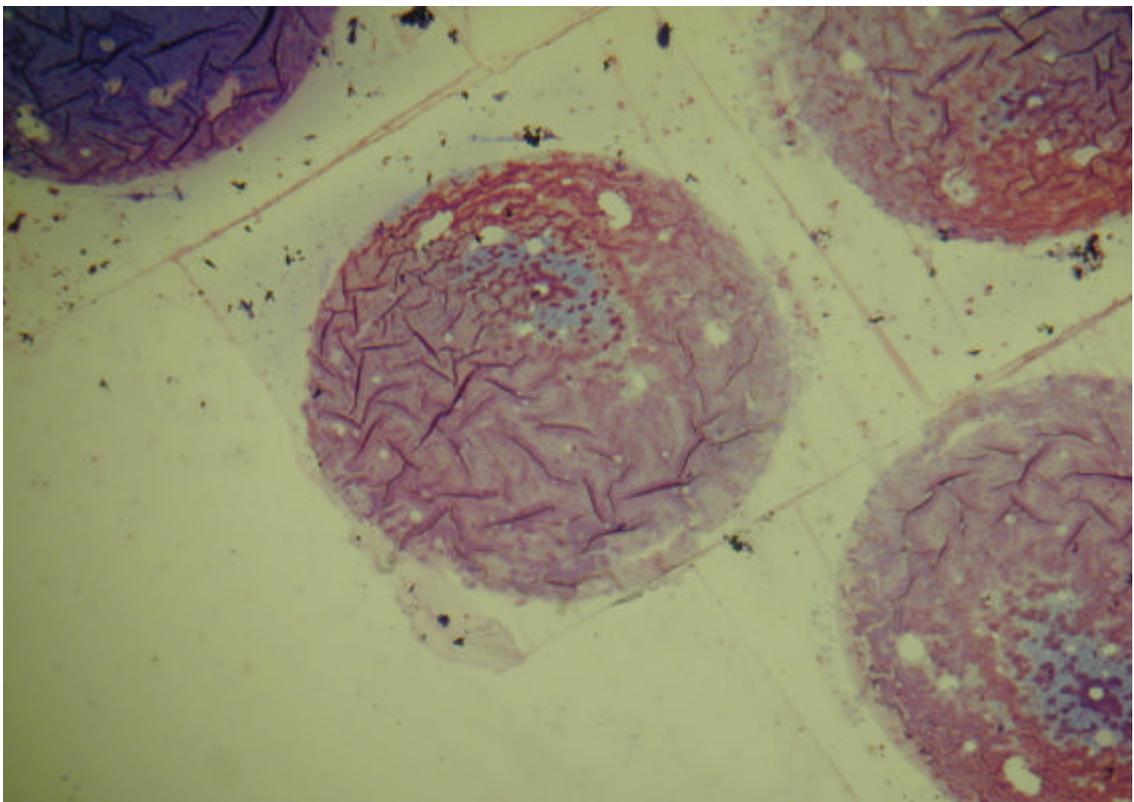


圖 9 B-9 40X

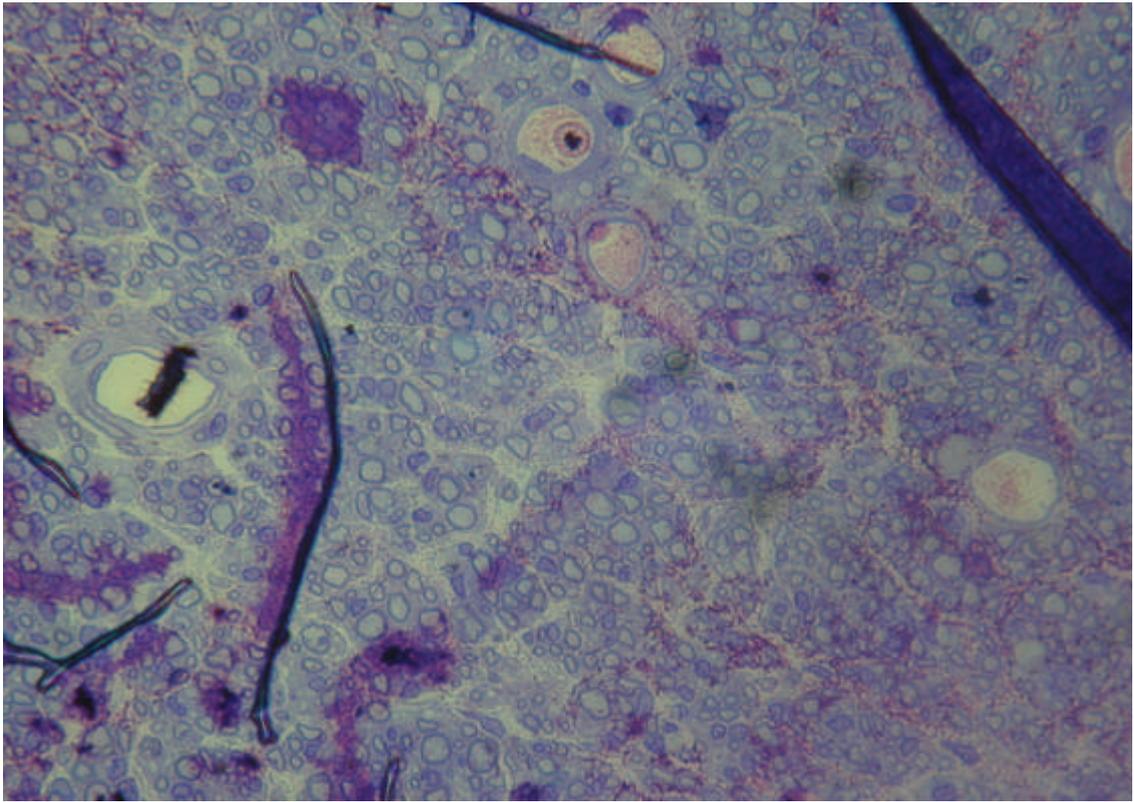


圖 10 B-9 400X

謝 辭

由衷感謝陳光偉所長，陳悅生老師的細心指導與指正，於過去兩年研究中遇到許多實驗上之瓶頸，由二位老師之指導下，都能於計畫中如期完成；另一方面杜寧漪小姐在動物流程上的協助，中醫研究所劉倩汝同學，於這段時間我們並肩努力，彼此督促，也是實驗完成之另一主因，雖然倩汝目前身體有恙，在此預祝希望她早日康復；文華國際生藥研究所賴榮祥教授指導黃耆豐富之內容，使我對實驗所用之材料有更深入之認識；台灣養豬科學研究所游碧蓮小姐協助切片製作，也是使本實驗有完美呈現之幕後功臣；更應感謝我們彰化基督教醫院郭守仁副院長、外科林同森部長、神經外科周啟文主任以上長官之關心及支持，科內住院醫師葉國球醫師、程久俊醫師、魏銘政醫師、賴肇康醫師，科內專科護理師廖惠珍小姐、邱琇琚小姐、吳麗芬小姐、林惠玲小姐，有他〔她〕們後盾使我於醫院工作上，能無後顧之憂。

此外，感謝內人吳文妙，在這段時間內忍受我的壓力，分擔我的喜怒哀樂，父母親無悔的支持，雖然家父於今年新年發生中風，他於生病中仍然督促我不要荒廢學業，希望此論文是人子對父親最好的獻禮，家中姊姊妹妹，對我噓寒問暖下，也為本文催生，我的兩個兒子鄭耕兆、鄭晏羽，因為爸爸要當你們的榜樣，所以不敢懈怠。

最後，感謝其他以上沒有提及但關心我的所有的師長與朋友，在我走入醫學研究領域中，有許多特別之際遇，沒有大家無法使我成為現在的我。