

中國醫藥大學中國醫學研究所博士論文

指導教授：林昭庚 教授

共同指導教授：陳悅生 教授

論文題目

活血化癥中藥對神經再生之影響

Effects of Ligusticum chuanxiong and Earthworm on injured  
peripheral nerves in rats

研究生：陳潮宗

中華民國九十九年四月六日

# 目 錄

第一章 前言 .....	1
第二章 文獻探討 .....	6
第一節 神經系統簡介 .....	6
2-1-1 神經元 .....	6
2-1-2 神經膠細胞 .....	9
第二節 周邊神經損傷 .....	9
2-2-1 周邊神經損傷的原因 .....	9
2-2-2 周邊神經損傷的分類 .....	11
2-2-3 周邊神經損傷後的反應 .....	14
第三節 週邊神經斷傷的修補技術 .....	19
2-3-1 斷端縫合術 .....	20
2-3-2 組織黏著劑黏合法 .....	21
2-3-3 雷射神經縫合法 .....	21
2-3-4 神經移植術 .....	22
2-3-5 神經導管接合術 .....	23
第四節 神經管相關之研究 .....	24
2-4-1 矽膠管內神經再生之細胞學變化 .....	25
2-4-2 神經導管的分類 .....	27
第五節 中醫活血化瘀原理 .....	29
2-5-1 常用活血化瘀中藥 .....	29
第六節 地龍 .....	30
2-6-1 古籍探討 .....	30
2-6-2 現代藥理探討 .....	34

第七節 川芎 .....	36
2-7-1 古籍探討 .....	36
2-7-2 現代藥理探討 .....	39
<b>第三章 材料與方法 .....</b>	<b>45</b>
第一節 實驗材料 .....	45
3-1-1 矽膠管 .....	45
3-1-2 中藥萃取液 .....	45
3-1-3 動物實驗 .....	45
第二節 實驗方法 .....	47
3-2-1 製備矽膠管 .....	47
3-2-2 製備中藥萃取液 .....	47
3-2-3 動物實驗 .....	48
3-2-4 神經電生理檢測實驗 .....	51
3-2-5 神經組織學切片分析 .....	52
3-2-6 組織學定量分析 .....	53
<b>第四章 結果 .....</b>	<b>55</b>
第一節 觀察實驗大鼠外表之變化 .....	55
4-1-1 一般外觀觀察結果 .....	55
4-1-2 矽膠管與神經再生之觀察 .....	56
4-1-3 神經再生之成功率 .....	57
第二節 神經電生理檢測結果 .....	59
4-2-1 振幅 ( amplitude ) .....	59
4-2-2 波下面積 .....	62
4-2-3 神經傳導速率 .....	64
第三節 組織切片觀察與分析 .....	66

4-3-1 術側腓腸肌切片觀察 .....	66
4-3-2 再生神經組織學切片分析 .....	68
<b>第五章 討論 .....</b>	<b>80</b>
第一節 中藥地龍對於神經再生之評估 .....	84
第二節 中藥川芎對於神經再生之評估 .....	85
<b>第六章 結論 .....</b>	<b>88</b>
<b>參考文獻 .....</b>	<b>90</b>
<b>英文摘要 .....</b>	<b>103</b>
<b>謝辭 .....</b>	<b>105</b>





## 圖目錄

圖 2-1	神經元的構造 .....	8
圖 2-2	神經膠細胞構造 .....	10
圖 4-1	中藥地龍組對神經再生之成功率 .....	58
圖 4-2	中藥川芎組對神經再生之成功率 .....	59
圖 4-3	地龍 A、B、C、D 四組振幅比較 .....	60
圖 4-4	川芎 A、B、C、D 四組振幅比較 .....	61
圖 4-5	地龍 A、B、C、D 四組波下面積比較 .....	63
圖 4-6	川芎 A、B、C、D 四組波下面積比較 .....	64
圖 4-7	地龍 A、B、C、D 四組神經傳導速率的比較 .....	65
圖 4-8	川芎 A、B、C、D 四組神經傳導速率的比較 .....	66
圖 4-9	術側腓腸肌切片觀察 -正常之腓腸肌切片 .....	67
圖 4-10	坐骨神經在截斷並經過手術值管後之腓腸肌切片 .....	68
圖 4-11	中藥地龍濃度 31.25 $\mu$ g/ml 再生神經組織切片 .....	69
圖 4-12	中藥地龍濃度 125 $\mu$ g/ml 再生神經組織切片 .....	70
圖 4-13	中藥地龍濃度 500 $\mu$ g/ml 再生神經組織切片 .....	70
圖 4-14	中藥地龍組之對照組再生神經組織切片 .....	71
圖 4-15	中藥川芎濃度 1.25mg/ml 再生神經組織切片 .....	71
圖 4-16	中藥川芎濃度 12.5mg/ml 再生神經組織切片 .....	72
圖 4-17	中藥川芎濃度 125mg/ml 再生神經組織切片 .....	72
圖 4-18	中藥川芎組之對照組再生神經組織切片 .....	73
圖 4-19	地龍 A、B、C、D 四組再生神經全部面積之統計 .....	74
圖 4-20	川芎 A、B、C、D 四組再生神經全部面積之統計 .....	75
圖 4-21	地龍 A、B、C、D 四組再生血管數目之統計 .....	76

圖 4-22 川芎 A、B、C、D 四組再生血管數目之統計 ..... 77

圖 4-23 地龍 A、B、C、D 四組髓鞘化軸突數目之統計 ..... 78

圖 4-24 川芎 A、B、C、D 四組髓鞘化軸突數目之統計 ..... 79



## 表 目 錄

表 2-1	中樞神經系統與周邊神經系統 .....	8
表 2-2	神經膠細胞的種類與功能 .....	10
表 4-1	地龍 A、B、C、D 四組振幅比較 .....	60
表 4-2	川芎 A、B、C、D 四組振幅比較 .....	61
表 4-3	地龍 A、B、C、D 四組波下面積比較 .....	62
表 4-4	川芎 A、B、C、D 四組波下面積比較 .....	63
表 4-5	地龍 A、B、C、D 四組神經傳導速率的比較 .....	65
表 4-6	川芎 A、B、C、D 四組神經傳導速率的比較 .....	66
表 4-7	地龍 A、B、C、D 四組再生神經全部面積之統計 .....	74
表 4-8	川芎 A、B、C、D 四組再生神經全部面積之統計 .....	75
表 4-9	地龍 A、B、C、D 四組再生血管數目之統計 .....	76
表 4-10	川芎 A、B、C、D 四組再生血管數目之統計 .....	77
表 4-11	地龍川芎 A、B、C、D 四組髓鞘化軸突數目之統計 .....	78
表 4-12	川芎川芎 A、B、C、D 四組髓鞘化軸突數目之統計 .....	79

# 活血化癥中藥對神經再生之影響

陳潮宗

指導教授：林昭庚

中國醫藥大學 中醫系博士班

周邊神經損傷是目前臨床上一個受到重視的健康與醫療議題。而神經遭到截斷而產生間距的週便神經損傷更是目前最受到關注的問題。雖然在以往的外科手術上採用了各種先進的修補技術，不過術後的神經功能仍未能完全的恢復到受損前的狀態，而造成了一個不是很滿意的結果。當神經遭受到較為嚴重的缺損時，神經移植術與神經管接合術可以作為一個修復的參考技術。連接神經兩斷端的神經管架橋除了可以避免體內產生的排斥反應外，同時也提供一個絕緣的環境，將會阻礙神經再生的細胞及其分泌物阻擋在管外，並導引神經往正確的方向生長。

地龍與川芎自古以來就是一種受到廣泛使用的中藥材，具有活血化癥之功效。在現代的研究中，他們在神經保護的能力上受到了證實，但對於神經再生的促進能力則尚不清楚。因此，我們嘗試將這兩種中藥當作神經再生促進物質，測試其對於神經再生之效果。

本研究利用大鼠做為動物模型，將其坐骨神經截斷後，以矽膠管接合，兩端之間距固定在 10mm，並在矽膠管內填入不同濃度的地龍或川芎萃取液，藉以觀察其對大鼠周邊神經再生之作用與效果。組織切片與電生理評估技術被使用來評估神經功能的恢復程度。八週後的結果顯示，不管是地龍或川芎實驗組的再生神經均呈現與對照組相似的神經微觀結構。然而，在 125 mg/ml 高劑量的川芎實驗組，其髓鞘化的軸突明

顯少於其他三組，而呈現出抑制神經再生的結果。地龍濃度 500  $\mu$ g/ml 實驗組相對於另外兩組實驗組也呈現了類似神經再生抑制的效果。這樣的結果顯示了地龍與川芎同時對於神經再生可以產生正面與負面的影響。因此，藥物的適當濃度或劑量將是神經是否可以再生跨越受損間距的一個關鍵因素。

關鍵字：地龍、川芎、矽膠管、周邊神經再生、中醫

# 第一章

## 前言

神經損傷是目前社會上一個受到重視的健康與醫療議題，隨著科技的進步與交通事業的蓬勃的發展，神經損傷的發生機率也越來越高。根據美國的資料統計，在急診室的創傷病患中，約 2.8% 合併有周邊神經的損傷，且常造成病患在生活品質與神經功能恢復不佳之困擾<sup>[1]</sup>，而癱瘓也是神經損傷所造成的另一項嚴重問題。美國與歐洲每一年大約有十萬人進行了周邊神經修復手術<sup>[2]</sup>，而手術的花費也造成了患者沈重的負擔。根據估計，美國人一年約花費了 70 億美元的成本在相關的開支上<sup>[3]</sup>。在台灣方面，根據行政院衛生署的統計，光是中樞神經損傷之病患就有二萬多人，且每年以一千多人的速度在增加，其中尚未包括周邊神經受損及神經退化等疾病而行動不便者<sup>[4]</sup>。

絕大多數的神經元損傷將造成細胞的永久死亡。不過，若是周邊神經元的軸突只受到輕微的損傷而未傷到細胞本體時，許旺氏細胞 (Schwann cell) 可以幫助軸突的修復<sup>[5]</sup>。許旺氏細胞在神經修復的過程中會分泌多種神經刺激素來促進神經細胞的再生，並扮演嚮導的角色，引導神經軸到達所支配的器官。在神經的修復或再生過程中，若神經軸的排列發生不一致的情形則會影響日後神經功能恢復的程度，並提高引發神經瘤的機率<sup>[6]</sup>。不過，以上的修復只能針對神經細胞的輕微損傷。在一般較嚴重的情形如神經纖維斷裂形成較大的裂縫時，人工修復技術成為了主要的治療方式。



神經損傷後的治療是需要與時間賽跑的，它並不像一般外傷可以等待身體慢慢的修復。手術治療上的延遲將可造成無可挽回的結果。再加上神經的再生過程是漫長且複雜，尤其在人體內的神經每天只能生長大約一毫米（1mm）的情況下，就算有患者進行立即性的神經修復手術，對於預測神經修復後的結果還是顯得是十分困難<sup>[7]</sup>。為了解決這種難題，科學家近年來以縮短再生時間、擴大神經再生間距、提高再生神經的成熟度、促進神經功能恢復等目標為研究方向，以期找尋出一個更佳的治療方式。

人工神經修復技術的誕生就是為了追求讓神經在經過接合後可以恢復至更接近神經未斷裂前的功能，而使用何種神經接合術則取決於神經斷裂時，間隙的大小。以當前技術而言，有以下四種修復技術：(1) 斷端直接縫合（end-to-end suturing）、(2) 神經束縫合術（fascicular suturing）、(3) 神經移植術（nerve grafting）、(4) 神經管接合術（nerve bridging）。前兩項技術僅適用於斷裂長度少於數毫米的神經缺損，主要是將神經斷裂的兩端利用手術加以縫合。其缺點是在手術中所造成的大量結疤組織易阻礙神經之再生，進而影響神經功能恢復的時間。此外，手術中為克服神經間的間隙，常需將神經斷端拉長，但經實驗證實，神經斷端因拉長而延伸出來的長度最好限制在原長度的8%~10%內以避免缺血的情形產生<sup>[8]</sup>。而在許多實際的狀況下，神經斷端之間的缺損過長在進行斷端直接縫合後易導致神經縫合處或整條神經的張力（suture tension）太大，進而使神經纖維受損變形而失去其功能。為解決前兩項神經修補技術的不足，故發展出神經移植術與神經管接合術。

神經移植術也常稱之為自體神經移植術，主要是擷取體內其他部位的神經來修復受損的神經。其優點在於有較好的預後及適用於受損間距較大的神經，同時也可以避免免疫反應的發生。不過，其最大的缺點則是神經供給有限，而風險則包括了供給部位因此受損而無法恢復原本的功能及造成捐贈處（donor site）的併發症。雖然異種移植與同種異體移植也常被學者拿來研究，但這兩種方式的成功機率相對較低且會伴隨免疫排斥反應的問題，故目前並不建議使用在神經修復上<sup>[9]</sup>。

神經管接合術則是將兩神經的斷端置入神經管兩端的內部，並藉由此神經管來引導與支持再生神經纖維成長。目前用來製作神經管的材料分為兩大類，一是來自於神經性之其他自體代替物，如血管、骨骼、肌肉等；另一類則是人工合成材料，例如矽膠管<sup>[6]</sup>。由於具備了透明、高度生物適應性及高度柔軟性等優點，矽膠管在近年來已被大量使用在神經再生與修復的相關研究。為了促進神經之再生，各種可以刺激神經再生的物質也被嘗試添加在神經管內，以使管中再生的神經能在最短的時間內，跨過神經間距完成再生。常用的神經再生刺激物質包括有：神經再生因子（nerve growth factor, NGF）<sup>[10,11]</sup>、腦衍生神經滋養因子（brain-derived neurotrophic factor, BDNF）<sup>[12]</sup>、膠原蛋白（collagen）<sup>[13]</sup>、Ginsenoside Rb1<sup>[14]</sup>、層黏連蛋白（laminin）和纖維結合素（fibronectin）的混合物等等。

中草藥為我國數千年來的重要資產，而近年來因養生保健意識的抬頭，中草藥的研究也越來越受到重視，而相關衍生產品的市佔率也在逐年提高。為打破各界對於中藥傳統的治療與使用觀念，各種中藥現代化與科學化的相關研究也正如火如荼的進行。在這之下，中草藥結合



西醫的生醫科技技術在神經再生的研究儼然成為另一個新的研究方向。近來，相關的發現包括了有紅耆 (*Radix Hedysari*) 內的主成分，紅耆多糖 (*Hedysari polysaccharides*) 可以在大鼠的神經損傷後促進其周邊神經的再生<sup>[15]</sup>。另外，黃耆 (*Astragalus membranaceus*)<sup>[16]</sup> 與葛根 (*Pueraria lobata*)<sup>[17]</sup> 的萃取物、人參皂苷 (*ginsenoside*)<sup>[18]</sup>、杏葉酯 (*bilobalide*)<sup>[19]</sup>、黃耆皂苷 (*astragaloside*)<sup>[20]</sup> 也被證實可以促進老鼠的坐骨神經再生。

活血化瘀法在中醫的治療法則中是非常重要的，許多的疾病，尤其是在慢性病與婦科雜病等，更不能不借助活血化瘀的功效，來達成治療目的。而活血化瘀藥則是指能疏通血脈，祛除血瘀的藥物，臨床用於治療血瘀證。按藥物作用特點不同，可分為養血活血藥，如丹參、當歸、赤芍等；活血化瘀藥，如川芎、地龍、紅花、蒲黃等；化瘀止痛藥，如乳香、沒藥、延胡索等；破血散結藥，如三棱、莪朮、桃仁等。

近來研究顯示，活血化瘀藥確實能促進周圍神經損傷修復，至於中藥方劑部分，補陽還五湯 (Buyang Huanwu Decotion) 已被證實對促進神經再生有明顯的功效<sup>[21]</sup>，而地龍 (*Pheretima aspergillum*) 與川芎 (*Ligusticum chuanxiong*) 均為其主要成分之一。地龍又名蚯蚓，含有很豐富的營養成分，長久以來被全球的各原住民族所採用<sup>[22]</sup>。根據記載，地龍有清熱平肝、定驚、消炎止痛、活血化瘀、通絡、平喘、利尿等作用。現代藥理研究則顯示，地龍可以有效的促進血液循環以消除體內的瘀血<sup>[23]</sup>，並透過增加生長因子 EGF (Epidermal Growth Factor) 和 FGF (Fibroblast Growth Factor) 的表現，進而加速傷口的愈合<sup>[24]</sup>。

中藥川芎始載於《神農本草經》，具有活血化瘀、行氣祛風及止痛之功效。根據現代文獻記載，川芎可以被使用在治療各種心血管疾病<sup>[25,26,27]</sup>，並且對於神經細胞擁有保護的效果。近來，研究指出川芎可以保護 PC12 細胞免於被血清剝除誘導（serum deprivation-induced）而死亡<sup>[28]</sup>。另有研究發現川芎對於受損的腓總神經（peroneal nerves）再生也有促進之作用<sup>[29]</sup>。不過上述研究都僅限於短距離之神經斷裂。對於較長距離的神經斷損是否擁有相同之治療效果則尚未被證實。

本實驗室在以往的研究中，曾嘗試將中藥葛根添加在明膠神經管的管壁，以觀察神經管在降解後對神經再生之影響。此外，在證實補陽還五湯對神經再生的效果後，也曾將該方劑中的各種中藥組成進行個別之研究，其中已被證實對神經再生有效果的包括有黃耆、赤芍及地龍。除了黃耆有進行動物實驗外，地龍與赤芍則主要是研究其對神經細胞再生之分子機轉。

有鑑於地龍與川芎均有助於促進體內之血液循環，而血液循環的流暢則對細胞之生長及再生有關鍵之影響，因此我們推測這兩種藥物對於神經細胞再生必有一定之效果。此外，由於一般細胞實驗與實際的動物活體實驗效果常存在一些落差，因此，為求慎重並證明這兩種中藥的效果，我們利用大鼠做為動物模型，將其坐骨神經截斷後，並以矽膠管接合、修補坐骨神經遭截斷之大鼠。矽膠管兩端之間距固定在 10 mm，並在矽膠管內填入不同濃度的地龍或川芎萃取液，藉以觀察其對大鼠周邊神經再生之作用與效果。

## 第二章 文獻探討

### 第一節 神經系統簡介

神經系統是我們人體內最主要的控制與通訊中樞，用以控制與反應人類的各種行為、思考和感覺模式。它也參與了許多體內功能的調節，與我們體內的其他系統有著密不可分的關係。神經系統主要分為兩大部分（表 2-1）：(1) 中樞神經系統（central nervous system, CNS），由腦和脊髓組成，是神經系統的整合與指揮中心，參與調控我們對於周遭環境所產生的知覺與反應；(2) 周邊神經系統（peripheral nervous system, PNS），由腦和脊髓所延伸出來的神經組織所組成，作為身體各部位與中樞神經系統的連結通道。

神經細胞由兩種主要的細胞所組成：(1) 支持細胞（supporting cell），一個圍繞和包覆神經元的小細胞；在中樞神經系統為神經膠細胞（neuroglia），而在周邊神經系統則是許旺細胞（Schwann cell）。兩者各自穿插在神經元之間的空隙中，負責提供協助、支持、營養及保護神經元的功能。(2) 神經元（neuron），產生電訊號（electrical signals）與其他細胞聯繫<sup>[30]</sup>。

#### 2-1-1 神經元

神經元主要包含三個基本構造 (圖 2-1): (1) 細胞體 (cell body), 包含了細胞質、細胞核、粒線體等細胞的必要元素, 為神經元的主要生物合成中心 (biosynthetic center), 若細胞體凋亡, 則神經元亦會跟著凋亡。(2) 樹突 (dendrites), 類似樹枝的分支, 為神經元彼此連結的部位, 主要作用是接收來自其他神經元的訊息, 並將訊息傳至細胞體。(3) 軸突 (axon), 或稱之為神經纖維 (nerve fiber) 是一個單一長管狀的延伸結構, 主要是將動作電位由細胞體往外傳送。

每一個神經元只有一個軸突, 但卻可以透過軸突側支 (axon collaterals) 分支出多個軸突末端 (axon terminals)。這些分支的末端會釋放出化學訊號, 而整過動作電位的傳送就是由軸突丘 (axon hillock) 開始, 沿著軸突往軸突側支上多分支的軸突末端傳送。因此, 軸突是神經元的傳導區域, 而軸突末端則是傳出訊號區。軸突在某些神經元中可能不存在或是非常的短, 但也有比一公尺還長的軸突, 視其體內所在的位置而決定<sup>[30]</sup>。髓鞘 (myelin) 主要由脂質構成, 類似電纜線外面的絕緣體, 包裹著軸突, 主要作用為加速訊號的傳送。這些形成髓鞘的細胞在中樞神經系統稱之為寡突狀細胞 (oligodendrocytes), 在周邊神經系統則稱之為許旺氏細胞 (Schwann Cell)。

神經元依其功能可區分為三類:

(1) 感覺神經元 (sensory neurons):

又稱之為傳入神經元 (afferent neurons), 主要是將人體在皮膚、體內器官或周邊的感覺受體 (sensory receptor) 接受的訊號傳導至中樞神經系統。



表 2-1：中樞神經系統與周邊神經系統

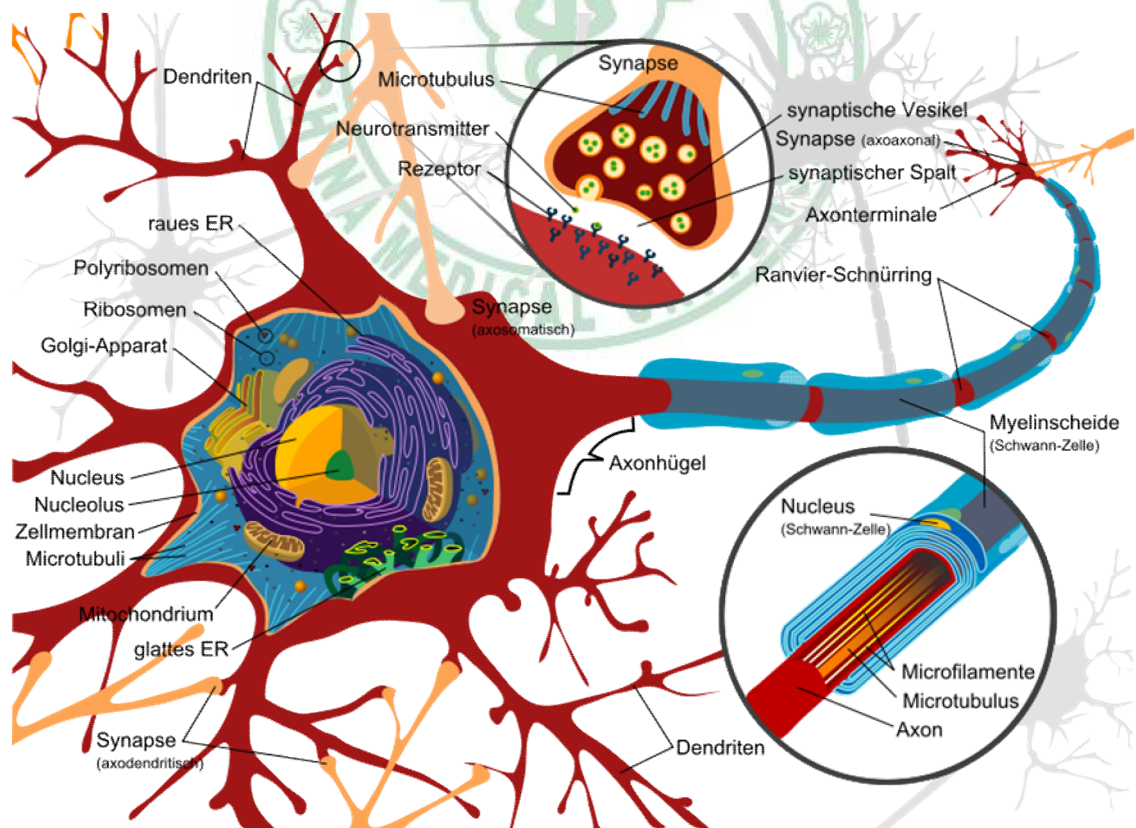
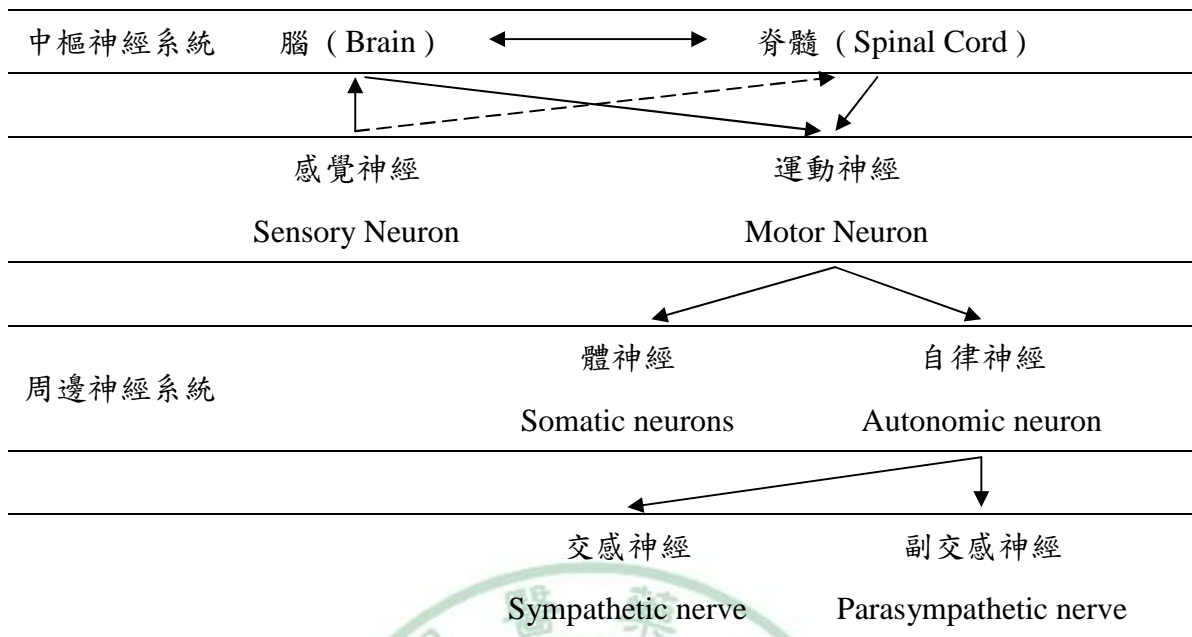


圖 2-1：神經元的構造

( 圖片來源：http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d6/Complete\_neuron\_cell\_diagram\_de.svg )

(2) 運動神經元 ( motor neurons ) :

又稱之為傳出神經元 ( efferent neurons )，則主要是將中樞神經系統所產生的訊號傳導至人體的器官或是周圍部位 ( 肌肉、腺體或皮膚 )。

(3) 中間神經元 ( interneurons ) :

又稱之為聯絡神經元 ( association neurons )，主要位於中樞神經系統內。人類 99% 神經元都屬於此一分類。其功能有如名字所表示，位於傳入神經元與傳出神經元之間，並將周邊反應整合成周邊訊息。

### 2-1-2 神經膠細胞

神經膠細胞又稱之為膠質細胞 ( Glia Cell ) 是另一類的神經細胞。其主要功能是針對神經元提供支持、營養、維持環境恆定及提供絕緣以加速動作電位的傳導。在中樞神經系統的神經膠細胞包含有星狀膠細胞 ( astrocytes )、寡突膠細胞 ( oligodendrocytes )、微膠細胞 ( microglia ) 及室管膜細胞 ( ependymal cells )；在周邊神經系統的神經膠細胞則有衛星細胞 ( satellite cells ) 及許旺氏細胞 ( Schwann cells )。各種神經膠細胞的分類與功能列於表 2-2，其型態則如圖 2-2。

## 第二節 周邊神經損傷

### 2-2-1 周邊神經損傷的原因

表 2-2：神經膠細胞的種類與功能

神經膠細胞的種類與功能		
位置	種類	功能
中樞	星狀膠細胞 (Astrocytes)	為星形的細胞，為膠質細胞中最豐富的一種。有許多凸出物，並以此固定住神經元，提供其血流供應。此外，其功能還包括調控神經元的外部化學環境、清除腦部毀損的細胞碎片及樣份的供給。
	微膠細胞 (Microglia)	負責消化部分死去的神經細胞。
	寡突膠細胞 (Oligodendrocytes)	包覆部分神經元的軸突，形成髓鞘構造，以提供絕緣的效果，使神經訊號傳遞得更快、更有效率。
	室管膜細胞 (Ependymal cells)	分佈於中樞神經系統中的腦室內壁。製造並分泌腦脊液，並藉由細胞上的纖毛幫助腦脊液的循環。
周邊	許旺氏細胞 (Schwann cells)	在周邊神經系統中形成髓鞘，提供一個絕緣的包覆效果，以加速訊號的傳送。亦具有吞噬能力，可清除細胞殘渣，並提供周圍神經系統的神經元再生的空間。
	衛星細胞 (Satellite cells)	衛星細胞為微小、排列於周圍神經系統的神經元外層的膠質細胞，負責調節神經元的外部化學環境。

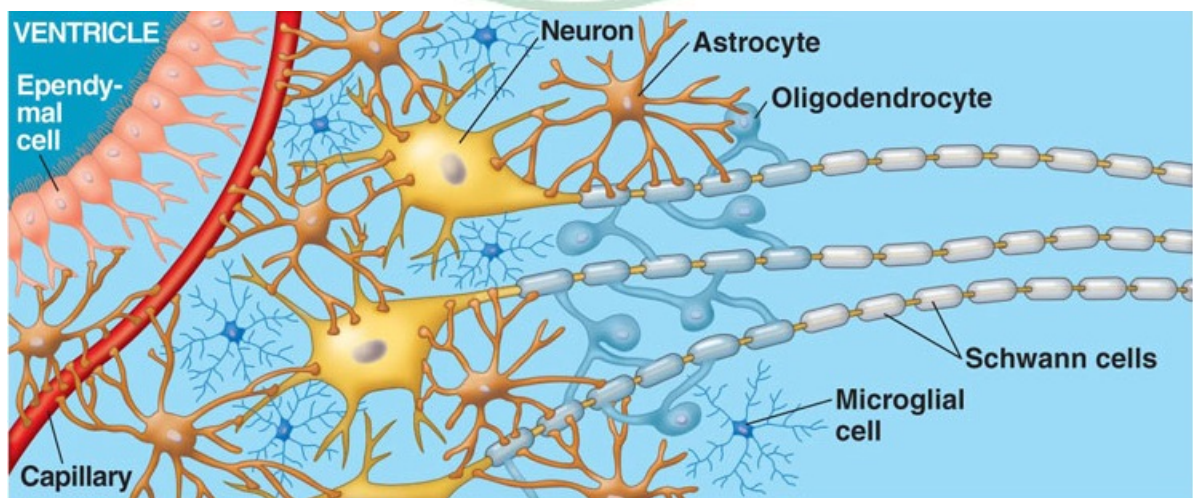


圖 2-2：神經膠細胞構造

( <http://brainmind.com/images/Neuronsglia.jpg> )



造成周邊神經損傷的原因很多，包括了有外傷、代謝、腫瘤、藥物、糖尿病、傳染性疾病等，而其中最常見的當屬於外傷性的因素。外傷性損傷的機轉包括了有牽扯、挫傷、撕裂傷、擠壓、燒傷、缺血<sup>[31]</sup>等。神經損傷的分類有很多種，有依病因，也有依據神經纖維的結構與功能的改變來分類。目前世界最常用的分類法包括了 Seddon 分類法<sup>[32,33]</sup>法與 Sunderland 分類法<sup>[34,35]</sup>，而這兩種分類法均是依據神經纖維的結構與功能的改變來做分類。

## 2-2-2 周邊神經損傷的分類

### 2-2-2-1 依病因分類

#### 1. 神經牽扯和挫傷 (avulsion)

主要是因為神經受到過大的張力拉扯所導致，尤其是瞬間之外力。通常神經只要被牽扯 10% ~ 20% 就會形成傷害<sup>[36,37,38]</sup>，而這重現象最常見於四肢。

#### 2. 壓迫性的神經病變 (compression neuropathy)

主要原因為周邊神經受到慢性壓迫，常發生在周圍神經幹較接近體表處。腕隧症候群 (carpal tunnel syndrome) 是最常見的病變，主要是因為正中神經在腕橫韌帶處受到壓迫所造成。其他如橈神經在肱骨表面受到壓迫 (Saturday night palsy)、腓神經在膝部受到壓迫 (crossed leg passy)、尺神經在肘部受到壓迫 (cubital tunnel syndrome) 等也都會引起不同程度的傷害<sup>[39]</sup>。另外，身體的局部損傷、血腫或是腫瘤等，也會引起慢性的壓迫傷害。

#### 3. 神經撕裂傷 (laceration)



多由意外時割傷或骨折所引起。被割斷的神經易合併有血管同時被割斷的情形而造成出血。這時會形成結締組織的橫切，嚴重的話甚至會出現血腫壓迫到神經。這類損傷的神經再生速度很慢，且再生的情形會因為兩斷端的不連續間隙或神經束的錯接而變得更為複雜。若神經近斷端的軸突在神經遠斷端位置不正確的情況下持續生長，則容易形成外傷性的神經瘤（traumatic neuroma）。

### 2-2-2-1 Seddon 分類法

Seddon 在 1943 年針對神經損傷區分為三個不同程度<sup>[32,33,40]</sup>。

#### 1. 神經失用（neurapraxia）

係指在連續的軸突內有局部傳導阻斷（local conduction block）現象，而神經的應激性（excitability）仍然存在。在顯微鏡下觀察，可發現並無神經纖維的病變。在病理學上，可以發現有局部髓鞘損傷的情形，但軸突的連續性（axonal continuity）仍保持完整，也沒有 Wallerian 氏退化（Wallerian degeneration）的情形發生。這是最輕微的一種神經損傷，傳導阻斷的情形會在局部髓鞘修復後恢復，一般會持續幾星期或幾個月。神經失用包括了完全的運動麻痺以及少量的感覺或交感神經功能障礙，而神經受到擠壓受傷後產生的急性局部去髓

鞘的阻斷（acute local demyelinating block）就是神經失用的其中一種。

#### 2. 軸突斷傷（axonotmesis）

係指神經在受傷後喪失了軸突的連續性，但神經內膜（endoneurium）仍然完整。此類型下，軸突的連續性遭受破壞，並

使軸突的遠端發生 Wallerian 氏退化 (Wallerian degeneration)。神經功能恢復的時間取決

於軸突再生時再支配 (reinnervation) <sup>[41,42]</sup> 原來的目標組織的時間。軸突斷傷後，仍可沿著原本舊有的途徑再生，並重新支配原本的目標組織，故一般預後良好。軸突的再生速度相當緩慢，每天大約只有 1.5mm，但卻可以在臨床上用來評估復原所需的時間。

### 3. 神經斷傷 (neurotmesis)

係指除了軸突斷傷外，也造成了神經幹其他部分的斷傷，以致於連續性發生部分或完全的喪失。神經幹其他部分包含了神經內膜 (endoneurium)、神經束膜 (perineurium)、神經外膜 (epineurium) 以及髓鞘等非軸突的部分。此分類的損傷需靠手術來修復，且神經功能恢復的預後均不佳。

#### 2-2-2-1 Sunderland 分類法

Sunderland 根據神經幹不同組織的受傷程度進行了更詳細的分類 <sup>[34,35]</sup>。

他將神經損傷分為五個類型：

第一型：相當於 Seddon 的神經失用 (neurapraxia)。

第二型：相當於 Seddon 的軸突斷傷 (axonotmesis)。

第三型：相當於 Seddon 的神經斷傷 (neurotmesis)。軸突與神經內膜喪失，但神經束膜仍保持完整。會產生 Wallerian 氏退化以及神經數紊亂。依照神經受傷程度之不同，神經可能會自行修復，也有可能需依靠手術來進行修復。不過神經瘤的產生會造成神經功能恢復的預後不佳。

第四型：相當於 Seddon 的神經斷傷 (neurotmesis)。軸突、神經內膜及神經束膜均喪失，但神經外膜仍保持完整。神經需靠手術來進行修復。

第五型：相當於 Seddon 的神經斷傷 (neurotmesis)。神經幹完全斷離。軸突、神經內膜、神經束膜及神經外膜均喪失，需靠手術來修復，且時間點變得非常重要。

### 2-2-3 周邊神經損傷後的反應

當周邊神經發生軸突斷裂時，其會在三個地方產生退化性變化<sup>[39,45,46]</sup>。

#### 2-2-3-1 遠端軸突部分

當遠端軸突發生損傷後，神經細胞會在 24 小時內發生瓦勒氏退化 (Wallerian degeneration)。變化會由損傷處向遠端處蔓延，因此也稱之為順行性退化 (anterograde degeneration)。在損傷的初期，斷裂的軸突會腫大且呈現不規則狀。之後，軸突會斷裂成片段，而其殘骸會被周圍的巨噬細胞與 Schwann cells 消化與清除。在同一個時間，軸突周圍的髓鞘也會發生斷裂而慢慢地被破壞分解。神經纖維的神經膜不會發生退化且維持在一個空心管的狀態。在損傷後的 96 小時，近端的神經纖維會萌芽並向空心管生長，這時空心管內的許旺氏細胞會發出生長因子來引導神經纖維的生長。若神經芽順利抵達空心管，它將會以 1-3mm/day 的速度往管內生長而最終抵達並支配目標組織。倘若神經斷裂的間隙過大或損傷處已結疤而造成神經芽無法順利抵達管腔，則就需要利用手術來加以修復。

瓦勒氏退化的進行可以分為以下三個階段：

### 1. 軸突的退化：

相較於一般細胞損傷時，大量鈣離子的湧入以促進傷口愈合的反應，軸突的損傷則引發了急性軸索退化（acute axonal degeneration, AAD），造成了軸突在受傷的 30 分鐘內形成近端與遠端細胞的快速分離<sup>[47]</sup>。隨之而來的則是軸索的腫大與形成不規則狀。在周邊神經系統，整個過程大約歷時 24 小時，而在中樞神經系統則需要更長的時間。整個軸索退化的信號傳遞途徑目前尚未清楚，不過有研究指出 AAD 是一個 calcium-independent 的過程<sup>[48]</sup>。

軸突骨架與其內在細胞的顆粒分解發生在軸索退化之後。初期的變化包含了在受傷處的神經節區域產生粒線體的堆積。內質細胞降解與粒線體膨脹並最終被分解。微小管被去聚合化（depolymerization）而很快跟隨而來的是神經絲與其他細胞骨架成分的降解。整個瓦解過程依賴泛素（Ubiquitin）與鈣蛋白酶（calpains）的作用，強調軸索退化是一個主動過程而非被動過程<sup>[49]</sup>。降解的速率將視損傷的類型而定，而中樞神經系統的速率會比周邊神經系統來得慢。另一項影響降解的速度則是軸突直徑的大小，直徑較大的軸突將需要更多的時間來完成降解的過程。

### 2. 髓鞘的清除：

髓鞘是一層包圍著軸突的磷脂膜（phospholipid membrane）以提供一個絕緣的功能。在周邊神經系統中，它是由許旺氏細胞所產生，而在中樞神經系統則是由寡樹突神經膠細胞（oligodendrocytes）所產生。髓鞘的清除是瓦勒氏退化中，軸突分解後的接下來過程。髓



鞘殘骸的清除在 CNS 與 PNS 中有很大的差異。在 PNS 中，髓鞘殘骸的清除顯得更有效率及快速，而許旺氏細胞就是造成這項差異的主要原因。另一項關鍵因素則是這兩個系統中血組織障壁（blood-tissue barrier）通透性的改變。在 PNS，通透性的增加是由傷處的近端貫穿到遠端，而在 CNS，障壁的瓦解僅限於傷處<sup>[48]</sup>。

許旺氏細胞對於軸突損傷的反應非常快速，而神經調節因子被認為負責了這項反應的啟動。它們活化許旺氏細胞微絨毛內的 ErbB2 受體，進而導致有絲分裂活化蛋白質激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）的活化<sup>[50]</sup>。雖然觀察到 MAPK 的活動，不過許旺氏細胞對於損傷感應的機制尚未被充分的瞭解。髓鞘脂質的合成在感應到軸突損傷後開始減少，直到在 48 小時後完終止。髓鞘會先在施-蘭切跡（Schmidt-Lanterman incisures）中從軸突分離，然後快速的退化與縮短以形成珠狀結構。許旺氏細胞透過終止髓鞘的合成，吞噬細胞外髓鞘以及引導巨噬細胞進行更進一步的髓鞘碎片的吞噬工作以達到髓鞘碎片的清除<sup>[48]</sup>。

許旺氏細胞在發現軸突損傷後會透過釋放細胞激素（cytokines）與趨化細胞激素（chemokines）來聚集巨噬細胞。巨噬細胞的聚集將能協助改善髓鞘碎片的清除率。而已存在於神經內的巨噬細胞也會進一步釋放細胞激素與趨化細胞激素來吸引更多巨噬細胞的聚集。此外，退化中的神經細胞也會產生巨噬細胞的趨勢分子（chemotactic molecules），而另一項引導巨噬細胞聚集的因子則是血清。這些信號分子合起來引導巨噬細胞大量的聚集，而其數量在損傷後的第三個星期達到最高峰。許旺氏細胞啟動了髓鞘清除的初始工

作，巨噬細胞則是負責完成這項工作。調理素（opsonins）將欲移除之髓鞘碎片標示以便巨噬細胞進行辨識與移除。血清中三個主要的成分包括補體（complement）、正五聚蛋白（pentraxins）和抗體（antibodies），不過，僅有補體有助於髓鞘碎片的吞噬工作<sup>[51]</sup>。

### 3. 神經細胞再生：

神經細胞退化之後隨之而來的就是再生。周邊神經系統的神經細胞再生速率是非常快的，大約可以達到 1mm/天的速度<sup>[52]</sup>。在一般正常的神經中，神經成長因子（Nerve growth factor, NGF）的產量是非常少的。不過，在神經受損後，NGF mRNA 的表現會在 14 天內提高到 5~7 倍。神經中的纖維母細胞與許旺氏細胞在提高 NGF mRNA 的表現上扮演了重要的角色<sup>[53]</sup>。巨噬細胞透過了巨噬細胞源性細胞間白素-1（macrophage-derived interleukin-1）來刺激許旺氏細胞與纖維母細胞來分泌神經成長因子<sup>[54]</sup>。

其他由許旺氏細胞與纖維母細胞分泌的神經營養因子包含有腦源神經營養因子（Brain-derived neurotrophic factor, BDNF）、神經膠細胞衍生之神經營養因子（Glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF）、睫狀神經營養因子（Ciliary neurotrophic factor, CNTF）、白血病抑制因子（Leukemia inhibitory factor, LIF）、類胰島素生長因子（Insulin-like growth factor, IGF）和纖維母細胞生長因子（Fibroblast growth factor, FGF）。這些營養因子共同創造了一個有利於軸突生長於再生的環境<sup>[48]</sup>。除了生長因子外，許旺氏細胞也提供了結構上的引導來進一步加強再生的進行。在細胞增生的階段，許旺氏細胞開始在基底膜內形成一個細胞的平行索狀排列，以便引導軸突

往正卻的方向再生。若神經沒有再生成功，則原本的空間將會被纖維母細胞所產生的纖維組織所取代。

### 2-2-3-2 近端軸突部分

截斷處近端的變化與遠端相似，但破壞只向近端蔓延到最近的第一個蘭氏節處。

### 2-2-3-3 細胞體部分

當軸突因受傷斷裂後，細胞體以及連於該組織之部分與游離的軸突都會發生一連串的變化。最典型的變化會在受傷後的兩天內，在細胞體內發生，並在兩週內達到最大的破壞程度。這些變化包括了形態、化學性質和代謝機能的改變。在發生斷裂後的數小時內，神經膜會因神經細胞質之流動而積聚在近傷區的軸突末端。隨後將形成新的質膜以防止更多的神經細胞質的流失。同一時間，在傷區及鄰近的神經膜會產生去極化現象，並持續達數小時之久。這時膜電位改變，而離子及水分之異常進出神經元的情形也隨之出現。

細胞體內的內含物也會因軸突的損傷而有所改變：RNA 的活性及含量會改變，顆粒性內質網上的多核糖體會減少，而單核糖體則會增多，因此而改變了尼氏小體（Nissl bodies）的結構。尼氏物質會變細、呈顆粒狀的分散在細胞質內。此種狀況造成尼氏小體無法用尼氏小體染色法染出來。這種現象稱之為尼氏小體的染質溶解現象（chromatolysis），也有人譯為色素溶解。尼氏小體之溶解始於軸索阜（axon hillock），然後

延伸至整個細胞體。如果神經元損傷不很嚴重，則細胞體周圍仍會留有一圈尼氏小體。再者因為核糖體的 RNA 增加，所以蛋白質的合成會增強，同時脂肪物質的形成也會增加。神經細胞體內的胞器如粒線體、高爾基氏體、神經原纖維和神經微小管等也會隨之發生變化。

由於神經細胞體內發生一連串生理及成分的改變，所以，受損的細胞體在形態上除了有尼氏小體溶解之現象外，尚可發現有細胞體膨大的情形。細胞核會從中央位置往細胞周邊移動，細胞本體膨脹變圓。這種神經纖維斷裂或損傷後，神經細胞體所產生之反應稱之為軸突反應 (axonal reaction) 或逆行性之退化 (retrograde degeneration)。在逆行性退化中，尼氏小體溶解之嚴重與否，將影響受損之神經元細胞體能否再生。尼氏小體溶解的情形會因受損神經元的種類、方式及位置而有不同之影響，而其中以損傷位置對尼氏小體之溶解影響最大。損傷位置越接近細胞體，則尼氏小體的溶解與細胞水腫之程度將越嚴重。反之損傷位置遠離細胞體越遠則可能引起不完全或輕微之尼氏小體溶解而已。

### 第三節 週邊神經斷傷的修補技術

神經的再生與預後將取決於神經斷傷後所形成的間距，因此斷傷的間距是選用何種神經接合術最重要的考量因素。就目前技術而言，神經截斷後有以下幾種修補技術：

1. 斷端縫合術 (End-to-end suturing)
2. 組織黏著劑黏合法 (Tissue fibrin adhesive techniques)
3. 雷射神經縫合法 (Laser neurorrhaphy)



4. 神經移植術 (Nerve grafting)

5. 神經導管接合術 (Nerve bridging)

前三項技術僅適用於斷裂間隙較短且長度少於數毫米的神經缺損，主要是將神經斷裂的兩端利用手術加以縫合。若是斷裂的間隙較大，尤其間距大於 10mm 甚至 15mm 以上時，直接縫合會因為張力太大而使神經纖維受損變形而失去其功能，所以選擇後兩項作為治療的方式。

### 2-3-1 斷端縫合術 (End-to-end suturing)

斷端縫合術是將神經受損的兩斷端拉近對齊並給予縫線縫合。根據縫合位置之不同，一般可以分為三種：神經外膜縫合法 (Epineurial repair)、神經纖維束縫合法 (Group fascicular repair) 和神經束膜縫合法 (Perineurial repair)。神經外膜縫合法為目前最常用的神經修復方式<sup>[55,56]</sup>，常被應用在被橫切受傷的神經。為了能有一個平整面以利手術之進行<sup>[57]</sup>，必須先將兩斷端做修剪。之後，在高倍鏡下，將兩斷端之神經外膜與血管對齊。最後，再以 8-0 nylon 至 10-0 nylon 不可吸收縫線穿過兩斷端之神經外膜將之縫合。在進行神經接合時，除了神經受損的兩斷端需對齊外，還需注意縫合後的神經接合面不能有太大的張力以避免影響到神經的再生。不過，由於縫合點是在神經外膜，所以神經束未必能完全緊密接合，進而影響到神經功能的恢復<sup>[58-60]</sup>。

神經纖維束縫合法，係將兩斷端之神經外膜剝離，再以縫線將兩端相對應的神經束自神經束膜處縫合。此方法能使神經束正確接合，將有助於神經功能的恢復；但因其手術過程複雜，較易引起血管受損及術

後水腫情形等副作用。神經束膜縫合法則是將受損的神經束加以分離，將神經束膜進行不連續縫合。因此技術複雜耗時，且較容易產生疤痕組織，可能妨礙神經的生長，所以一般僅應用在單一且功能特殊的神經束上<sup>[61]</sup>。以上這些縫合技術適用於斷裂長度少於數毫米的神經缺損，優點為手術過程較為簡單，且不會對神經造成嚴重的傷害。而缺點則是手術中易造成大量結疤組織、血管受損及水腫等副作用而阻礙神經之再生，進而影響神經功能恢復的時間。

### 2-3-2 組織黏著劑黏合法 (Tissue fibrin adhesive techniques)

組織黏著劑黏合法，係將神經的雙斷端加以修剪整齊並接合在一起，然後再從遠離斷面的兩端神經外膜進行暫時性的縫合，使兩斷面不致脫離。最後再用纖維蛋白膠 (fibrin glue) 將神經的接合面加以包覆黏合。由於此方法沒有直接在斷面進行縫合，因此可以減少縫合導致的手術傷害以及縫線所造成的異物反應<sup>[62,63]</sup>。

### 2-3-3 雷射神經縫合法 (Laser neurorrhaphy)

雷射神經縫合法是一種使用雷射光束來接合神經斷面的技術。採用低能量雷射光束時，採用的是血液作為黏著膠來把神經斷面接合。此種低能量雷射法比較適合用於較細的神經上。而採用高能量雷射光束時，則是將兩斷端的神經外膜進行燒灼性接合，比較適合用於較粗的神經上。雖然雷射神經縫合法有避免縫線造成不良異物反應的優點，但相對地其所產生的能量會對受損的神經纖維造成熱傷害的缺點。加上其神經修復結果不優於斷端縫合修復法，所以仍以斷端縫合修復法為優先選

擇<sup>【64,65】</sup>。

#### 2-3-4 神經移植術 (Nerve grafting)

神經移植術主要包含了自體移植與異體移植。在 1932 年，Balance 首先採用了自體神經移植的方法來修復神經損傷，獲得比想像中還要理想的效果，而修復斷傷神經的間距有也有所增加。目前這項技術已經成為臨床修復神經缺損的一種常用方式。由於這項技術的發明，身體其他組織器官如靜脈、動脈、肌肉，血管等橋接損傷神經的方法才得到了發展<sup>【59】</sup>。自體神經移植是目前最常用的神經移植術，主要是切下自體的非損傷神經片段，然後移植到斷傷神經的缺口處。

腓腸神經 (sural nerve) 與前臂皮神經 (antebrachial cutaneous nerve) 是目前最常被用來移植的神經。腓腸神經 (sural nerve) 因為有較大的直徑，加上所含的神經束包含了單一及多重神經束，分支較少，且兩側下肢可取用的長度較多，故最適合用於較長的神經缺損。手術時，先將兩斷端的神經瘤及斷端間的疤痕組織移除，藉由顯微技術，將兩斷端附近之神經外膜移除，之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。由於神經移植的縫合線幾乎不能承受任何的張力，所以縫合時僅能以非常細之線，逢 1~2 針，使斷端保持接合狀態即可<sup>【66】</sup>。有些時候，在縫合處會有疤痕組織的形成而阻礙了神經的再生，稱之為 tincl sign。若在二至三個月未見改善，則此處必須重新執行接合手術<sup>【67】</sup>。

神經移植術比較適用於較長的神經缺損。近年來因外科手術的進步，已經使移植成功率大大提高。不過，其缺點則包含有移植神經的來源取得相當困難，同時在取得神經移植段時可能導致其他部位功能的受損。

### 2-3-5 神經導管接合術 (Nerve bridging)

19 世紀末，自從 Gluck 採用脫鈣骨製成骨性管橋接神經損傷部位以來，利用神經導管修復周邊神經損傷，已被許多國內外學者認為是一個切實可行的方法<sup>[68]</sup>。1898 年 Forssman 發現再生軸突總是朝向遠側神經斷端生長而不向其他組織生長，他把這種現象稱為神經趨化性。20 世紀年代，Lundborg 等通過 Y 型矽膠管實驗證實周邊神經再生確實存在著神經趨化性，並且還具有組織特異性、神經束特異性和功能特異性<sup>[69]</sup>。此項發現帶動了神經導管接合術研究的廣泛開展。

神經導管接合術係利用生物或非生物的材料製成大小適中的導管，再將神經的兩個斷端放入導管的兩端，並將兩斷端神經外膜跟管壁結合固定，然後並利用導管來導引及支持再生神經纖維的生長。這項技術較適合用於較長的神經缺損。其優點如下：

1. 傷處周圍增生的結締組織很容易因為形成神經瘤 (neuroma) 而壓迫到再生的神經，妨礙神經的生長。神經導管使再生軸突的微環境從周圍環境中完全獨立出來，並提供保證神經再生的一個暢通通道，防止周圍增生的結締組織迫近壓迫到再生神經，使其不致於阻斷軸突的生長<sup>[70]</sup>。



2. 神經導管提供和維持軸突生長所需的環境，將神經營養因子、生長因子等促進軸突生長的刺激物質保留於管內，以免快速流失。由於神經導管中的生物環境可以人為控制與改變，所以我們可以透過人為調節的方式來形成最有利於神經再生的微環境。此外，還可作為研究神經營養因子在促進神經再生作用的一項可靠的工具<sup>[71]</sup>。
3. 把抑制神經再生的因子排除於導管外<sup>[72]</sup>。
4. 應用神經導管可以避免自體神經移植的一些併發症，如創傷性神經瘤的形成等。

為了讓神經細胞有一個最佳的再生環境<sup>[73,74]</sup>，我們可以藉由人為的方式來調控神經導管中的微環境。一般調控的項目包括 Schwann cell、細胞外基質與神經營養因子三方面。

#### 第四節 神經管相關之研究

由於神經導管接合術為目前治療神經斷傷的一項新的技術，學者們投入了各種研究以致力於提升這項技術的安全性與效能。相關研究包括了：探討神經導管之最適當材質、神經導管的樣式與塑型、神經導管內微環境之調控、神經導管的物理性質、降解性神經導管製材之交聯方法、探討在施行神經導管接合術後，在給予其他輔助療法的效果與影響等<sup>[75-78]</sup>。通過這些研究，希望未來在神經導管接合術的應用上，可以縮短神經細胞的再生時間，並擴大神經的再生間距。此外，也希望減少施行神經導管接合術後所衍生之併發症，並提升再生神經的成熟度與功能的恢復。

## 2-4-1 矽膠管內神經再生之細胞學變化

使用矽膠管進行神經導管接合術，來修復大鼠截斷的坐骨神經，在矽膠管內神經再生時的細胞學變化如下：

### 2-4-1-1 液體堆積 (fluid accumulation)

術後第一天，矽膠管內立刻充滿了淡黃色的液體，液體內含有血清及其他細胞體液<sup>[79]</sup>。研究顯示，此液體含有數種成份，例如 laminin、fibronectin 及神經營養因子，而這些物質能促進體外培養的神經元生長<sup>[80]</sup>。Williams 等 (1983) 所進行為期四週的實驗顯示，管內液體在整個過程中均能包圍著再生神經組織<sup>[81]</sup>。

### 2-4-1-2 纖維橋的形成 (fibrin bridge)

術後一週內，易碎的纖維橋 (fibrin bridge) 逐漸在管內形成並沿著管的中軸移動，最後將神經的兩斷端接合起來<sup>[82]</sup>。這纖維橋對於陸續遷入的 fibroblast、許旺氏細胞及軸突提供了一個良好的骨幹。術後十四天，經過染色的纖維橋，可看見非常細絲狀的 laminin 和 fibronectin。纖維橋的中段通常是比較狹窄的，而其在神經再生的一週內相對於其他時間而言，有較大的截面積<sup>[83]</sup>。

### 2-4-1-3 纖維母細胞移行 (fibroblast migration)

術後第七天，纖維母細胞增生並開始從兩斷端進入纖維橋。纖維

母細胞的外觀呈長條形，缺少基底膜，內部則是明顯擴張的粗內質網<sup>[83,84]</sup>。纖維母細胞一旦進入了纖維橋，變會在矽膠管內形成一向心形狀的細胞層，包圍著兩斷端。接下來，這些細胞會由斷端進入纖維橋的核心區<sup>[83]</sup>。兩星期後，數層向心狀排列的纖維母細胞已圍繞著纖維橋的核心區<sup>[82]</sup>。

#### 2-4-1-4 Schwann 細胞移行 (Schwann cell migration)

當再生之神經細胞以 Toluidine blue 染色時，在顯微鏡下可以看到 Schwann 細胞具有中密度的細胞質和一個卵圓形、白色的細胞核<sup>[85]</sup>。Schwann 細胞的增生和遷徙在神經接合後的一週最為明顯，這個現象則與再生神經中 Schwann 細胞的 mitogenic factor 有關<sup>[82]</sup>。許旺氏細胞自兩段端進入纖維橋<sup>[83]</sup>，而它的基底膜則提供了再生軸突吸附及生長的基質<sup>[82,83]</sup>。

#### 2-4-1-5 血管芽形成 (vascular sprout)

血管細胞在神經軸突生長的環境上，扮演著舉足輕重的角色。血管芽在術後的兩週，自截斷處長出，而血管的移行經常在跟隨在許旺氏細胞和纖維母細胞之後。血管可以在再生細胞的邊緣和中央處被發現<sup>[84]</sup>。Williams 等觀察到，在術後四週，整條再生神經 (10 mm) 均可觀察到血管的存在<sup>[81]</sup>。Jenq 與 Coggeshall 則發現，在接合八週後，矽膠管內的再生細胞血管數與血管大小 (平均血管數 48 個，最大直徑 70  $\mu\text{m}$ ) 比較，有增加的趨勢<sup>[84]</sup>。

### 2-4-1-6 再生單元和 Schwann 細胞柱

Williams 等發現，使用矽膠管修補被截斷之大鼠坐骨神經（10 mm gap）的手術後兩週，在距近斷端 1-5 mm 處，許旺氏細胞會聚集在一起，圍繞著再生之無髓鞘軸突<sup>[81]</sup>。這些軸突和許旺氏細胞的聚集體被稱之為「再生單元」，而在其他類似的神經導管接合術中也可以發現他們的蹤跡<sup>[86]</sup>。除了近斷端外，在遠斷端 1-3 mm 處的矽膠管內也可以發現有稱之為「許旺氏細胞柱」的細胞聚集在一起。當再生的組織使用 Toluidine blue 染色時，可以看見蒼白的許旺氏細胞核<sup>[83]</sup>。這些許旺氏細胞柱通常有數個細胞厚，而主要特徵包括擁有基底膜，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許旺氏細胞柱接觸後，許旺氏細胞柱會影響再生軸突往遠斷端生長。

### 2-4-1-7 髓鞘化 (myelination)

許旺氏細胞負責形成周邊神經的髓鞘。髓鞘化的過程最早於神經接合後的三週發生，此時在再生神經的近端可見軸突（約 0.1  $\mu\text{m}$  厚）和薄且緊密的髓鞘<sup>[82]</sup>。Le Beau 等發現，隨著接合後時間的增長，髓鞘的厚度會變得愈厚（術後 42 天，髓鞘厚度 0.37  $\mu\text{m}$ ；術後 435 天，髓鞘厚度 0.57  $\mu\text{m}$ ）<sup>[79]</sup>。然而，再生神經的髓鞘相較於一般正常神經的髓鞘還是來得較薄。不過這樣的結果並不影響其功能。在電生理的研究顯示，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<sup>[82,87]</sup>。

### 2-4-2 神經導管的分類



由於神經管在好壞也是影響神經再生的因素之一，因此，一個良好的神經管將有助於神經細胞的再生與功能之恢復。一條良好的神經管必須具備有以下的各項條件：

1. 透明，以利於觀察受損神經之再生。
2. 輕薄且富有彈性
3. 良好的生物適應性
4. 對神經之再生與恢復能有促進之作用
5. 神經再生時，可抑制纖維母細胞與結締組織之增生

神經導管依據材料的不同可分為生物材質之材料 (biological materials)，及人工合成材料 (synthetic materials) 二大類。生物材質為主的材料又可分為包括有靜脈、骨骼肌、羊膜等在內的生物結締組織材料；與來自生物體的天然材料，其中包含有膠原蛋白 (collagen)、明膠 (gelatin)、幾丁質 (Chitin) 與幾丁聚醣 (Chitosan) 等。

人工合成材料則可分為非生物可降解性合成材料與生物可降解性人工合成聚合物。非生物可降解性合成材包括有矽膠管 (silicone)、金屬管等；而生物可降解性人工合成聚合物則主要包含了聚乳酸 (polylactin acid, PLA)、聚羥基乙酸 (polyglycolic acid, PGA)、聚磷腈 (polyphosphazenes) 等。另外，我們也可以針對神經導管的通透性分類成通透性材料和非通透性材料。

為了營造一個對神經再生更有利的微環境，神經導管的管腔中可

放入一些添加物來促進神經的再生。這些添加物可分成三類：1. 許旺氏細胞及神經片段；2. 不溶性細胞外基質分子：包括層粘連蛋白 (laminin)、纖維連接蛋白 (fibronectin) 和膠原蛋白等；3. 可溶性神經營養趨化因子。

## 第五節 中醫活血化癥原理

中藥的治療法有幾個原則，是根據疾病的主次、先後、輕重、緩急而擬定的，分別是：「治病求本」、「急則治標」、「緩則治本」及「標本兼治」。標，是指疾病的現象，如受病毒、細菌感染；本，是指疾病的本質。以正與邪而言，正氣是本，邪氣（病毒或細菌感染）是標；以疾病本身而言，病因是本，症狀是標。中藥的治療法，常用者有八種，分別是「汗、吐、下、和、溫、清、補、消」等「八法」，而活血化癥法，則為「八法」中之「消法」。

消法是化癥散結的療法，其包括消導和散結的作用，是針對氣、血、痰、食、水、蟲積等所結成的有形實邪，使之漸消緩散。而活血化癥法是傳統醫學根據其癥血理論針對「血癥」證的一種治療方法，屬於傳統醫學治療八法中的「消法」。此法不但可達到癥去痛止，化癥生新，癥去血止，加快血腫及腫塊的吸收和消散之目的，而且增加血流量，促進新陳代謝，提高機體抗病能力，有利於消炎，幫助疾病的治癒。血癥存在於臨床各種疾病之中，所以在臨床治療過程中，在病程不同階段適當使用活血化癥法或佐以活血化癥藥給予治療，會得到良好效果。

### 2-5-1 常用活血化癥中藥

活血化癥藥是指能疏通血脈、祛除瘀血，臨床用於治療血瘀證的藥物。其藥性較溫和，多屬平性或微寒、微溫之品，味多辛、苦，主歸肝、心經。中醫臨床上常使用地龍、川芎、赤芍、當歸、紅花、丹參、黃耆等藥材做為活血化癥之用。

## 第六節 地龍

### 2-6-1 古籍探討

地龍始載於《神農本草經》，原名白頸蚯蚓，為臨床上常用之中藥之一。根據古文記載，地龍亦稱作「蟷」或「蚓」，今俗稱為蚯蚓，又稱之為曲蟬。地龍產於兩廣者品質最優，被奉為道地藥材，故稱廣地龍。參環毛蚓的前端有一淺色環，習稱「白頸」，故有白頸蚯蚓之名。

#### 2-6-1-1 來源與產地

鉅蚓科動物參環毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 主要產於廣東、廣西與福建等地，故藥材稱之為「廣地龍」。縞蚯蚓 *Allalobophora caligino* (Savigny) *trapezoids* (Ant. Duges) 則主要產於河南、山東、江蘇、福建、安徽等地，藥材名稱為「土地龍」。

#### 2-6-1-2 藥材性狀

##### 1. 廣地龍：

藥材呈乾燥全體，長條薄片狀，頭端及尾端仍保持原來形狀。全體彎曲不直，體前稍尖，中央有口，尾端鈍圓，體背色棕紅或灰紅，腹部色較淡，前端有一環帶，色淺，習稱「白頸」。體壁較厚。不易折斷，斷面黃白色。氣腥，味微鹹。以條大、肥壯、不碎、無泥者為佳。

## 2. 土地龍

藥材呈乾燥全體，彎曲的圓柱形，體完整，口位於較尖的一端，肛門開。口於鈍圓的一端，環帶多不顯明，體表灰棕色，常附有泥土。質輕脆，易折斷，折斷後，中間充滿泥土。氣腥，味微鹹。以條大、不碎者為佳。

### 2-6-1-3 藥性

地龍味鹹，性寒，入肝、脾、膀胱經。《名醫別錄》：大寒，無毒。《藥性本草》：有小毒。《本草求真》：入脾經。《本草再新》：入肝、脾、肺三經。

### 2-6-1-4 歷代本草地龍功效記載

1. 《本草綱目》：「蚓在物應土德，在星禽為軫水。上食槁壤，下飲黃泉，故其性寒而下行，性寒故能解諸熱疾，下行故能利小便、治足疾而通經絡也。」
2. 《日華子本草》：「治中風，並癲疾，去三蟲，治傳屍，天行熱疾，喉痹，蛇蟲傷。」



3. 《神農本草經》：「味鹹，寒。主治蛇瘕，去三蟲、伏屍、鬼疰、蠱毒，殺長蟲，仍自化作水。」
4. 《名醫別錄》：「大寒，無毒。主治傷寒伏熱，狂謬，大腹，黃疸。鹽沾為汁，治耳聾。」
5. 《開寶本草》：「味鹹，大寒，無毒。療傷寒伏熱，狂謬，大腹，黃疸。」
6. 《本草圖經》：「腳風藥必須此物為使，然亦有毒。有人因腳病藥中用此，果得奇效，病癒服之不輟，至二十餘日，覺躁憤，但欲飲水不已，遂致委頓。大抵攻病用毒藥，中病即當止也。」
7. 《本草衍義》：「若治腎臟風下病不可闕也，仍須鹽湯送。」
8. 《本草衍義補遺》：「屬土而有水與木，性寒。大解諸熱毒，行濕病，凡使白頸自死者良，然亦應候而鳴。此物有毒，人被其毒，以鹽水浸咬處，又以鹽湯飲之，立差。若治腎臟風、下產病不可闕也，仍須鹽湯送。」
9. 《本草經疏》：「蚯蚓得土中陰水之氣，故其味鹹寒，無毒大寒。能祛熱邪，除大熱，故主伏屍鬼疰，乃療傷寒伏熱狂謬。鹹主下走，利小便，故治大腹黃疸。諸蟲癥瘕，鹹屬濕熱所成，得鹹寒之氣，則瘕自消，蟲自去，而蠱毒之熱亦解矣。昔一道人，治熱病發狂，用白頸蚯蚓十數條，同荊芥穗搗汁，與飲之，得臭汗而解。其為治傷寒伏熱狂謬之明驗也。」
10. 《本草蒙筌》：「味鹹，氣寒。屬土與水。無毒。一雲大寒，小毒。治溫病大熱狂言，療傷寒伏熱譫語。並用搗爛絞汁，井水調下立瘥。小水不通，亦搗汁飲。蠱毒卒中，須浸酒吞。主蛇瘕，殺蛔蟲，理腎風，消腳氣。又療黃疸，行濕如神。」

### 2-6-1-5 功效與主治

最早的中藥學專著《神農本草經》中收載的 67 種動物藥中就有地龍。李時珍著《本草綱目》蟲部 42 卷中用地龍入藥的處方有 40 多種。根據《本草綱目》記載關於地龍之療效：「性寒而下行，性寒故能解諸熱疾，下行故能利小便，治足疾而通經絡也。」，又曰：「主傷寒、瘧疾，大熱狂煩，及大人、小兒小便不通，急慢驚風，歷節風痛」。地龍功效與主治整理如下：

#### 1. 清熱息風

主治：狀熱狂燥，驚癇抽搐，癲癇。

#### 2. 平喘

主治：肺熱喘咳，哮喘，百日咳等證。

#### 3. 通絡

主治：風濕熱痹，風寒濕痹，中風半身不遂，骨折腫痛。

#### 4. 利尿

主治：熱結膀胱，砂石淋證。

### 2-6-1-6 禁忌

脾胃素弱，或無實熱之證者忌用。

## 2-6-2 現代藥理探討

### 2-6-2-1 主要成分

地龍主要成分包含地龍素 ( Lumbitin,  $C_{259}H_{528}O_{125}N_{47}SP_3(CaC_{12})_{19}\cdot 3H_2O$  )、地龍解熱素 ( Lumbrofebrin,  $C_9H_{18}N_2O_6$  )、地龍毒素 ( Terrestrolumbrilysin )、琥珀素、黃嘌呤、膽鹼、脂肪酸類、核酸衍生物、多種氨基酸及維生素等。

### 2-6-2-2 現在藥理作用

#### 1. 中樞神經系統的作用

- a. 鎮靜抗驚厥作用：熱浸液、醇萃取液均能在動物實驗上表現出鎮靜的效果，並能對抗戊四唑 ( pentylenetetrazole ) 及咖啡因引起的驚厥<sup>[88]</sup>。
- b. 解熱作用：地龍對於感染性發熱的作用優於阿斯匹靈，並認為其退熱作用具有出現晚、適用範圍廣、療效確切和安全等特點。地龍中的蛋白質要經過加熱或受酶的作用後才具有解熱的作用，故認為其解熱作用有效成分為所含的氨基酸，有實驗證明可能為地龍解熱素 ( Lumbrofebrin )<sup>[88]</sup>。

#### 2. 對心血管系統的作用

- a. 降壓作用：地龍對於脊髓以上的中樞部位具有降壓的作用。地龍中的類血小板活化因子物質與地龍的降壓作用有關。
- b. 抗心律失常作用：有實驗結果推測地龍具有抗心律失常的作用，

並能抑制心臟傳導。小劑量的地龍熱浸液和乙醇浸出液可興奮離體的兔心，大劑量則抑制心臟，使心律減慢<sup>【88】</sup>。

### 3. 抗血栓作用

地龍經由口服或靜脈注射具有抗凝結與促進纖維溶解的作用，從而抑制血栓的形成，促進血栓溶解。地龍萃取物對纖維溶解的作用分成兩種方式，一種是採用直接溶解的方式進行，另一種則是採用激活纖溶酶原（plasminogen）的方式進行<sup>【88】</sup>。

### 4. 抗腫瘤作用

地龍萃取物不論在動物實驗或細胞實驗中，均顯示出其較強的抗癌作用，並有放療、化療和熱療的增敏作用<sup>【88】</sup>。

### 5. 對平滑肌的作用

a. 平喘作用：從廣地龍中萃取一種含氮的有效成分，對小鼠與兔子具有顯著的舒張支氣管作用，並能拮抗組織胺及毛果芸香鹼（Pilocarpine）對支氣管的收縮作用<sup>【88】</sup>。

### 6. 其他作用

a. 殺精作用：地龍萃取物對小鼠和人的精子有快速滅活（inactivated）作用。其作用特點為能迅速使精子制動、凝集和引起精子型態結構破壞三個方面<sup>【88】</sup>。

b. 抑菌作用：84% 乙醇和石油醚的地龍萃取物對人型結核桿菌有抑制作用<sup>【88】</sup>。



### 2-6-2-3 臨床應用

1. 用於高熱抽搐等證：地龍功能息風定驚，且有清熱作用，用於熱病高熱、驚癇抽搐，可與硃砂配伍應用；也可與全蠍、鉤藤、僵蠶等配伍同用。
2. 用於風濕痺痛，半身不遂等證：地龍又有通利經絡作用，常與祛風、活血藥同用，如配川烏、草烏、天南星等用於風濕痺痛，配當歸、川芎等用於半身不遂等，都是去其通絡的功效。
3. 用於哮喘：地龍用以平定氣喘，對哮喘偏於熱證者為宜，可研末單用，或配麻黃、杏仁等同用。
4. 用於小便不利、水腫等證：本品清熱而利小便，對熱結膀胱、小便不利，甚則引起水腫的病症，可配合利水藥如車前子、冬瓜皮等同用<sup>[03]</sup>

## 第七節 川芎

### 2-7-1 古籍探討

川芎，始載於《神農本草經》，原名芎藭。亦有人稱之為撫芎、京芎、山鞠芎。《本草綱目·卷十四·芎藭》：「芎本作營，名義未詳。或云：人頭穹隆窮高，天之象也。此藥上行，專治頭腦諸疾，故有芎藭之名。……其出關中者，呼為京芎，亦曰西芎；出蜀中者，為川芎；……出江南者，為撫芎，皆因地而名也。《左傳》：「楚人謂蕭人曰：有麥麩呼？有山鞠窮呼？河魚復疾奈何？」二物皆禦濕，故以諭之。丹溪朱氏治六鬱越鞠丸中用越桃、鞠窮，故以命名。」<sup>[89]</sup>

#### 2-7-1-1 來源與產地

川芎為傘形科多年生植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的乾燥根莖。主產於四川、雲南、湖南、湖北、貴州、甘肅、陝西等地。

### 2-7-1-2 藥材性狀

多年生草本，高 40-70cm。全株有濃烈香氣。根莖呈不規則的結節狀拳形團塊，下端有多數鬚根。莖直立，圓柱形，中空，表面有縱直溝紋。莖下部的節膨大成盤狀（俗稱苓子），中部以上的節不膨大。

### 2-7-1-3 藥性

川芎性辛溫，入肝、膽、心包經。《新修本草》：味苦、辛。《景岳全書·本草正》：味辛、微甘、氣溫。《湯液本草》：入手足厥陰經，少陽經。《藥品化義》：入肝、脾、三焦三經<sup>[89]</sup>。

### 2-7-1-4 歷代本草川芎功效記載

1. 《神農本草經》：「主中風入腦頭痛、寒痹，筋脈緩急，金瘡，婦人血閉無子。」
2. 《本草綱目》：「燥濕，止瀉痢，行氣開鬱。」
3. 《本草匯言》：「芎藭，上行頭目，下調經水，中開鬱結，血中氣藥。嘗為當歸所使，非第治血有功，而治氣亦神驗也……味辛性陽，氣善走竄而無陰凝粘滯之態，雖入血分，又能去一切風，調一切氣。」
4. 《本草新編》：「川芎……血閉者能通，外感者能散，療頭風其神，

止金瘡疼痛。此藥可君可臣，又可為佐使，但不可單用……倘單用一味以補血，則血動，反有散失之憂。若單用一味以止痛，則痛止，轉有暴亡之慮。」

5. 《本草別錄》：「除腦中冷動，面上游風去來，目淚出，多涕唾，忽忽如醉，諸寒冷氣，心腹堅痛，中惡，卒急腫痛，脇風痛，溫中內寒。」
6. 《藥性論》：「治腰腳軟弱，半身不遂，主胞衣不出，治腹內冷痛。」
7. 《日華子本草》：「治一切風，一切氣，一切勞損，一切血，補五勞，壯筋骨，調眾脈，破癥結宿血，養新血，長肉，鼻洪，吐血及溺血，痔痛，腦癰發背，癩癧癭瘤，瘡疥，及排膿消瘀血。」
8. 《醫學啟源》：「補血，治血虛頭痛。」
9. 王好古：「搜肝氣，補肝血，潤肝燥，補風虛。」
10. 陶弘景：「齒根出血者，含之多瘥。」

#### 2-7-1-5 功效與主治

川芎別名為芎藭、香果、胡荽、台芎、西芎、杜芎。其性味辛、溫。歸肝、膽、心包經。具有活血行氣、祛風止痛、開鬱燥濕的功效。生川芎辛香走竄，氣厚味薄，偏於行氣開鬱，祛風燥濕，調經止痛；酒炙川芎增強活血祛瘀的作用，並能引藥上行，主治血瘀頭痛。《本草經》曰：「主中風入腦，頭痛，寒痺筋攣緩急，金瘡，婦人血閉無子」；《本草綱目》：「芎藭，血中氣藥也」；《醫學啟源》：「補血，治血虛頭痛」。川芎功效與主治整理如下：

##### 1. 活血化瘀

主治：月經不調、經閉、痛經、難產、產後瘀阻、腹痛、脇肋疼痛、肢體麻木、鐵打損傷、瘡癰腫痛

## 2. 祛風止痛

主治：頭痛、風濕痹痛

### 2-7-1-6 炮製

揀去雜質，分開大、小個，用水浸泡，曬晾，悶潤後切片，乾燥。  
酒川芎：取川芎片用黃酒噴灑均勻，稍悶，置鍋內炒至微焦為度，取出放涼。

### 2-7-1-7 禁忌

陰虛火旺，上盛下虛及氣弱之人忌服。《本草經集注》：「白芷為之使。惡黃連。」《品匯精要》：「久服則走散真氣。」《本草蒙筌》：「惡黃耆、山茱、狼毒。畏硝石、滑石、黃連。反藜蘆。」《本草經疏》：「凡病人上盛下虛，虛火炎上，嘔吐咳嗽，自汗、盜汗咽幹口燥，發熱作渴煩躁，法並忌之。」《本草從新》：「氣升痰喘不宜用。」《得配本草》：「火劇中滿，脾虛食少，火鬱頭痛皆禁用。」

## 2-7-2 現代藥理探討

### 2-7-2-1 主要成分



川芎主要成分包含有揮發油，如阿魏酸（ferulic acid）、川芎嗪（tetramethylpyrazine）、藁本內酯（ligustilide）、芎藭呔內酯（senkyunolide）等。

### 2-7-2-2 現代藥理作用

川芎既為婦科要藥，又為治療頭痛良方，尤以療理風寒、風熱、血虛之頭痛著稱。現代醫學科學研究發現，川芎提取液對抑制白血病細胞有一定作用；藥理學研究證實，川芎製劑有一定的抗菌作用，尤其是對傷寒桿菌、副傷寒桿菌、霍亂弧菌、綠膿桿菌及致病性皮膚真菌等均有抑制作用。川芎中所含有的川芎嗪、阿魏酸鈉具有活血化瘀功效，可擴張冠狀動脈，增進冠脈流量，緩解心絞痛，並具有抗血栓形成作用；而其中的川芎內酯亦有平滑肌解痙和抑制腸肌、子宮收縮等作用。

#### 1. 對中樞神經系統的作用

川芎有明顯的鎮靜作用。川芎揮發油少量時對動物大腦的活動具有抑制作用，而對延腦呼吸中樞、血管運動中樞及脊髓反射中樞具有興奮作用。大劑量則轉為抑制大腦和腦幹，隨之抑制延腦中樞和脊髓反射功能，導致血壓、體溫下降，呼吸困難、運動麻痺，終至虛脫<sup>[88]</sup>。

#### 2. 對心臟的作用

a. 對心肌的作用：川芎的化學成分川芎嗪（tetramethylpyrazine）、香荳蔻素（Vanillin）和大黃酮均可作用於心肌細胞膜受體，其中川芎嗪有可能作用於 $\alpha$ 受體，香荳蔻素有可能作用於 $\beta_1$ 受體。川芎嗪能使心肌收縮力增強，對心肌缺血損傷具有較好的保護作用。川

芎嗪能通過阻斷內皮素受體而防止心肌缺血的發生<sup>[90]</sup>。

### 3. 對血管的作用

- a. 對血管平滑肌的作用：大量的實驗研究證明，川芎嗪有抑制血管收縮的作用，能夠擴張冠狀動脈、腦血管、肺血管、腎血管及周圍血管。田禾等通過對珠粒體冠狀動脈的研究發現川芎嗪可使細胞內 cAMP 水準增加，通過 cAMP 等系統的媒介，影響血管平滑肌非  $\text{Ca}^{2+}$  清除，降低細胞內  $\text{Ca}^{2+}$  濃度，從而引起血管平滑肌舒張<sup>[90]</sup>。
- b. 對血管內皮的作用：血管內皮細胞能合成和釋放許多重要的血管活性物質，缺氧或缺糖可引起血管內皮細胞受損，使其分泌和屏障功能失調，可導致多種心血管疾病和外周血管疾病的發生<sup>[90]</sup>。

### 4. 對腦的作用

- a. 對腦缺血缺氧的作用：川芎對腦缺血、缺氧再灌注損傷及腦梗塞損傷都具有保護作用。大量實驗顯示，川芎嗪能改善微循環，增加腦皮質流量，並促進神經系統恢復<sup>[90]</sup>。
- b. 對腦神經的作用：有國外研究顯示，阿魏酸對於腦神經具有保護作用。 $\beta$ -澱粉樣肽 1-42 (  $\beta$ -Amyloid 1-42 ) 可通過啟動小膠質細胞 ( microglia ) 和星狀細胞 ( astrocyte ) 加速神經原變形過程。而阿魏酸可抑制  $\beta$ -澱粉樣肽，破壞已形成的澱粉樣肽，同時可減輕自由基損害，抑制突觸小體膜的氧化，減少神經元凋亡，因而對阿茲海默症 ( Alzheimer's disease, AD ) 可能有治療作用<sup>[90]</sup>。

### 5. 對呼吸系統的作用

近年來眾多研究顯示，川芎嗪在減輕肺損傷、預防肺水腫方面均有良好作用。其機制主要為：川芎嗪通過抑制氧自由基的釋放，保護細胞膜而產生減輕肺損傷的作用；通過提高缺氧後腦幹的一氧化氮合酶（nNOS）表達，抑制神經細胞核表現 FOS 蛋白兩個途徑對抗缺氧引起的呼吸抑制，保護腦幹神經元；並能恢復內皮素（Endothelin, ET）和一氧化氮之間的動態平衡以降低血管通透性，改善缺氧狀態，從而保護肺血管的結構和功能<sup>[90]</sup>。

## 6. 對消化系統的作用

川芎嗪可提高胺組織中超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）的活性，顯著減輕肝膠原纖維增生程度，具有抗肝纖維化作用。川芎嗪還可對抗血栓素 A<sub>2</sub>（thromboxane A<sub>2</sub>）的合成與活性，抑制乳酸脫氫酶（lactate dehydrogenase, LDH）的異常變化，從而明顯減輕鼠、兔肝缺血的再灌注損傷<sup>[90]</sup>。

## 7. 對泌尿系統的作用

川芎嗪能夠顯著增加腎血流量，減輕兔腎熱缺血模型的腎組織損傷，還能提高模型腎炎家兔腎組織的 SOD 活性，從而減輕腎組織細胞的脂質過氧化損傷，降低缺血再灌注損傷腎臟細胞的凋亡指數<sup>[90]</sup>。

## 8. 對血液系統的作用

a. 抗血小板聚集作用：許多原因可導致血小板發生聚集，引起血栓。而川芎嗪具有顯著的抗剪切壓力（shear stress）誘導血小板聚集作用。Paragh 等研究顯示，川芎嗪能降低膽固醇及脂肪，從而降低血黏稠度，對高膽固醇血症和高甘油三酯血症具有治療作用<sup>[90]</sup>。

- b. 對骨髓造血的作用：造血不僅需要造血幹細胞（HSC）的增殖和分化，而且需要特定的骨髓微環境。川芎嗪能增強再生不良性貧血（Aplastic anemia, AA）小鼠骨髓造血細胞和基質細胞上 VCAM21、單個核細胞 PECAM21 的表達，加強造血細胞與基質細胞的相互作用，有利於造血細胞的增生<sup>[90]</sup>。

### 2-7-2-3 臨床應用

中醫藥理論認為川芎「辛香走竄而行氣，活血祛瘀以止血，上行頭目而祛風，下入血海以調經，並外徹皮毛，旁通四肢，為血中之氣藥」。故在臨床上常用於下列各等症狀：

1. 治婦女月經不調，能輔助暢通月經：如因貧血或血瘀而致月經不調，或經行超前、量少色紫、腹部隱痛、面色萎黃，用川芎配合當歸、熟地、白朮、黨參，使血液充足，月經通暢。
2. 治產後瘀血不淨，遷延近月，腹脹疼痛，川芎配合當歸、延胡索、香附、益母草，每日一劑，瘀血乾淨時停藥。
3. 治冠狀動脈硬化心臟病引起之心絞痛：川芎能增加冠狀動脈血流量，減少血流阻力，溶解血栓凝聚。川芎多採用複方，配合紫丹參、鬱金、桃仁、紅花、赤芍，行血散瘀功效更良好。
4. 治腦血管溢血，或血栓閉塞引起的半身癱瘓：配合赤芍、桃仁，能使瘀血溶解吸收，暢通血流。腦血栓和腦血管閉塞，用川芎能使血栓溶化，改善血液循環，加速微毛細管血液循環速度，擴張毛細血管網等作用。血液循環障礙得到改善，癱瘓能逐漸好轉。對於血栓閉塞血管炎、閉塞性靜脈炎等，川芎均有功效。
5. 風濕引起神經痛，有輔助止痛效果：凡坐骨神經痛有放射狀，川芎配



合桃仁、紅花、牛膝；三叉神經痛發作頻繁，川芎配合白芷、升麻、細辛；枕大神經痛，川芎加白芷、藁本、菊花。

6. 治風濕關節炎：初病時用川芎，屢治不愈者；風濕引起肌肉麻痺、膝關節脹痛，川芎能祛風濕活血止痛。
7. 止頭痛：川芎辛溫，能止頭痛。凡感冒發熱頭痛，川芎加荊芥、防風。神經性頭痛，配升麻、柴胡、白芷。凡血管性頭痛，配桃仁、紅花、延胡索。凡神經衰弱頭痛，兼有失眠心悸，配合天麻、酸棗仁、何首烏。高血壓引起頭痛，需用降血壓藥品為主。川芎能擴張血管，增加血液流量，促使血壓下降。凡因血壓升高引起眩暈頭痛，煩躁不安，川芎加鉤藤、豨薟草、石決明、菊花等。





# 第三章 材料與方法

## 第一節 實驗材料

### 3-1-1 矽膠管

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

### 3-1-2 中藥萃取液

實驗所使用的地龍 ( *Pheretima aspergillum* ) 與川芎 ( *Ligusticum chuanxiong* ) 購自莊松榮製藥廠有限公司 ( 台灣高雄 )，並由其負責萃取製備。藥材事先經過李慧琴藥劑師鑑定其品質。

### 3-1-3 動物實驗

#### 1. Tolidine Blue ( 神經髓鞘的染色劑 )

Tolidine Blue 的化學式為  $C_{15}H_{16}SCl + ZnCl_2$ 。由於其對神經組織中蛋白質的碳氧基有高度的親和力，故目前常被廣泛的用來當作神經髓鞘的染色劑。使用 Tolidine Blue 染色時，髓鞘會被染成深藍色，而髓鞘環內的軸突則呈現淡白色。本實驗所採用的 Tolidine Blue 係購自 Sigma (USA)。

## 2. 9-0 Nylon 縫線

用於將斷傷的神經固定於神經導管。實驗採用的 9-0 Nylon 縫線購自 Mani (Japan)。

## 3. 4-0 Catgut chrom 縫線

用於縫合大鼠肌肉及皮膚。實驗採用的 4-0 Catgut chrom 縫線購自 B. Braun (Germany)。

## 4. 消毒劑

用於實驗過程動物及器械的消毒。實驗使用的消毒劑為 Betadine® Antiseptic Solution，購自 Mundipharma (Germany)。

## 5. 麻醉劑

採用 AErrane® 氣體麻醉劑，用於手術製模過程中減低動物的痛苦。大鼠放置於透明麻醉箱中，利用氣體麻醉機 (Forawick Vaporizer，購自日本 Muraco Medical 公司) 麻醉。麻醉劑 AErrane® (Isoflurane) 購自美國 Baxter 公司。

## 6. 抗生素

採用 Pamoxicillin ( 內含 Amoxicillin trichydrate 1.5 gm/60 ml, 購自台灣聯邦化學製藥公司 )，每 1 g 溶解於 100 ml 逆滲透水中，作為大鼠術後二日份之飲水，以預防傷口感染。

## 7. 大白鼠

實驗所使用動物為雌性 Sprague-Dawley (SD rat) 大白鼠 (樂斯科生物科技)，重量約為 270 gm 左右，週齡約為 8 週。

## 第二節 實驗方法

### 3-2-1 製備矽膠管

此過程需於無菌操作台操作。首先，先準備矽膠管 72 支，每支長 12mm。由於前後各 1mm 將做於縫合之用，故實際的間距長度為 10mm，管內空間則可提供試劑填入。將矽膠管浸泡於 75% 酒精中消毒後，取出置於無菌培養皿中。每個培養皿置入十支，並放入烘箱中烘乾後保存備用。

### 3-2-2 製備中藥萃取液

#### 3-2-2-1 地龍

其萃取製備過程如下，第一次萃取：取地龍藥材 600 g 並加入蒸餾水 7200 ml 在溫度 100°C 下煎煮，持續一個小時後，將萃取液倒入貯存桶。該殘渣放在室溫下揮發水分。第二次萃取：將 6000 ml 蒸餾水再加入殘渣中煮沸，持續一個小時後，將萃取液倒入貯存桶與第一次萃取液合併。第三次萃取：再加入 4800 ml 蒸餾水煮沸，持續一個小時後，將萃取液倒入貯存桶，並將三次的萃取液合併。合併後的萃取液先經過過濾，再以旋轉真空濃縮機 (約 65°C) 濃縮，即為地龍浸膏 (265 ml)。浸膏製成後將保存起來以備未來體內與體外試驗時使用 (置於

-20°C 保存 )。

### 3-2-2-2 川芎

其萃取製備過程如下，取川芎藥材 650 g 磨成粉狀。然後分三次加入去離子水 6500 ml 煎煮。每次煎煮持續一個小時。每次煎煮後均將萃取液倒入貯存桶。最後並將三次的萃取液合併。合併後的萃取液先經過過濾，再以旋轉真空濃縮機濃縮，即為川芎浸膏 (265 ml)。浸膏製成後將保存起來以備未來體內與體外試驗時使用 ( 置於-20°C 保存 )。

### 3-2-3 動物實驗

本實驗的目的，是要將已加入不同濃度的地龍與川芎兩種個別中藥材之人造神經導管以手術縫合於雌性大鼠 ( Sprague Dawley, SD ) 右側坐骨神經的 10 mm 斷面上，再飼養八週，觀察神經再生以及神經導管降解情形。

#### 3-2-3-1 動物分組

依神經管內不同濃度的地龍與川芎萃取液隨機分成兩大組。兩大組下，再隨機細分成四小組。地龍組獲分配 40 隻 SD 大白鼠，其下四小組各有十隻 SD 大白鼠。川芎組則獲分配 32 隻 SD 大白鼠，其下四小組各有八隻 SD 大白鼠。分組如下：

### 地龍組：

Group A：對照組 → Normal Saline

Group B：實驗組 → 地龍 31.25  $\mu$ g/ml

Group C：實驗組 → 地龍 125  $\mu$ g/ml

Group D：實驗組 → 地龍 500  $\mu$ g/ml

### 川芎組：

Group A：對照組 → Normal Saline

Group B：實驗組 → 川芎 1.25 mg/ml

Group C：實驗組 → 川芎 12.5 mg/ml

Group D：實驗組 → 川芎 125 mg/ml

大白鼠在進行手術後委託中國醫藥大學動物中心代為飼養。飼養環境為中央空調房間，每一隻大鼠單獨飼養於一個籠子，溫度為  $22\pm 3$  °C，相對溼度為  $55\pm 5\%$ ，自由飲水，供給標準大鼠實驗飼料（福壽公司，台灣）加以餵養。

### 3-2-3-2 實驗步驟與方法

手術前先將大白鼠秤重，然後再將大白鼠放入透明麻醉箱，使用氣體麻醉機進行麻醉。麻醉劑為 AErrane<sup>®</sup> (Isoflurane)，初始劑量是 5 litter/kg · min。待大白鼠昏迷後，將大白鼠自麻醉箱中取出，並將麻醉機塑膠管套於大白鼠口鼻上以持續輸送麻醉劑，此時麻醉劑量則改為 2 litter/kg · min。在大白鼠失去意識後，將大白鼠予以左側躺，擺出右側向上側臥姿勢，右膝彎曲，並以右側股骨頭 (femur) 的位置為中心，



在上下各約 3 cm 範圍內，將大白鼠臀部及大腿的毛剔除。剃毛區以 Betadine<sup>®</sup> 自中心開始由內向外進行消毒三次，最後再覆以無菌洞巾，只露出欲手術的部位。

消毒完成之後，先以拇指及食指找到大鼠右側之股骨大轉子 (greater trochanter of femur) 及外側豆狀骨 (lateral fabella) 予以定位，並用 15 號手術刀沿此兩點之連線劃開皮膚。然後利用鈍性方式分離股二頭肌 (biceps femoris muscle) 與筋膜，並游離出長度約 2.5 cm 之坐骨神經。在距梨狀肌 (piriformis) 下緣 8 mm 處，用手術刀整齊切斷坐骨神經。然後取出已製備並滅菌完成之矽膠管，在距離矽膠管邊緣 1 mm 處，以 9-0 Nylon 縫線自矽膠管之外側穿入，然後再穿過進側神經斷端之神經外膜，最後自矽膠管之內側穿出，並於矽膠管外以單結固定。接下來，以微量注射器 (Hamilton, USA) 根據之前所分的組別，分別將不同濃度的地龍與川芎萃取液緩慢的注入矽膠管中。對照組則注入生理食鹽水。待注射完畢後，矽膠管的另一側亦以前述相同之方法固定於神經另一斷端。當兩邊的神經斷端經過固定後，其實際的神經間距為 10 mm。

在神經與導管縫合完畢後，麻醉劑量隨之改為 1 litter/kg · min。此時，以 4-0 Catgut chrom 縫線縫合大鼠的肌肉及皮膚。縫合結束後，再將劑量改為 0.5 litter/kg · min，並讓大白鼠持續麻醉五分鐘，其目的是為了讓矽膠管內的溶液有充足的凝結時間，以避免在大白鼠甦醒後因活動而造成溶液從矽膠管中流出。手術結束後，將大鼠秤重，然後放回籠子，並以鎢絲燈泡照光來維持體溫，避免失溫死亡，靜待大鼠甦醒。

### 3-2-3-3 術後 0 ~ 8 週狀態觀察與變化

術後，大白鼠被送往中國醫藥大學動物中心代為飼養照料八週。每具籠子飼養一隻大白鼠，被飼養在具有空調的房間中，半日照環境，溫度被控制在  $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ ，而相對濕度為  $45\pm 5\%$ 。術後三日供應含有抗生素之飲水，即以 Pamoxicillin<sup>®</sup> 1 g 溶解於 100 ml 逆滲透水中，以預防傷口感染。第四日起恢復供應正常逆滲透飲水。大白鼠每日正常供應飼料，及更換木屑墊料。八週的期間，需觀察大鼠有無死亡、自殘、飲食、大小便、傷口、毛色、行動等狀況，並以記錄。待八週後再加以秤重。

### 3-2-3-4 觀察神經再生情形

術後八週，再次將大白鼠麻醉、剃毛，及使用 Betadine<sup>®</sup> 消毒。然後定位出大鼠右側之股骨頭大轉子及外側豆狀骨，沿此兩點連線用手術刀劃開皮膚，並以鈍性方式分離股二頭肌 (biceps femoris muscle) 與筋膜。接下來以肉眼觀察神經導管降解情形、神經再生情形，並予以拍照紀錄。

## 3-2-4 神經電生理檢測實驗 ( Electrophysiological methods )

電生理實驗的目的，主要是要測量在植入神經導管處的大鼠肌肉對電刺激的反應，以觀察坐骨神經功能恢復的情形，並比較對照組與實驗組是否具有統計上的顯著差異。

### 3-2-4-1 實驗步驟與方法

大鼠在植入導管飼養八週期滿後，進行重新麻醉並以手術解剖觀察其神經再生情形及導管的降解狀態。接下來繼續以手術分離出附著於脛骨之股二頭肌、腓腸肌，以及附著於坐骨神經分支周圍之脂肪層，讓坐骨神經可以暴露於目光下。利用誘發電位儀（機型 Neuropack Four Mini，購自日本 Nihon Kohden Co.），我們進行了神經肌肉動作電位之誘發。首先，先將正負紀錄電極（recording electrode）其中一端分別插入神經導管遠端之腓腸肌肌腱及肌腹處，另一端則接到電腦系統（Biopac Systems, Inc., USA）。接下來再將一對刺激電極（stimulating electrode）置於神經導管近端 5mm 之坐骨神經幹以進行超強電刺激。當刺激電極釋放出 2.0 mA 電流刺激神經時，經由再生神經的傳導，於誘發電位儀上便可顯現神經肌肉複合動作電位（compound muscle action potential, CMAP）波形。最後，將電位波形加以紀錄，並計算出潛期（latency）、波期（duration）、振幅（amplitude）、波下面積、神經傳導速率（conduction motor nerve velocity 或 nerve conduction velocity, NCV）等值。

### 3-2-5 神經組織學切片分析

再生神經組織學切片評估的目的，係將再生神經採樣後製成切片，以鏡檢觀察神經生長狀態，並比較實驗組與對照組兩者有無差異。

#### 3-2-5-1 實驗步驟與方法

大鼠在經過電生理評估後，將其犧牲，並將神經導管連同再生的

神經組織一起取下，浸泡於 2.5% 戊二醛溶液 (glutaraldehyde)。浸泡三天後，取出含有神經組織之神經導管，並將其分成三等份，取中間一等份進行採樣。將樣品保存於固定液中 (2.5% glutaraldehyde、4% paraformaldehyde、0.1 M cacoadehyde 混合液) 1~2 日。之後，將樣品從固定液中取出，隨即以 1% OsO<sub>4</sub> 固定約 2 小時，再以 50~95% 酒精脫水，並用樹脂包埋後置入 60~70°C 烤箱中約 16 小時。待樹脂硬化後，將包埋之再生神經組織作橫向 5 μm 切片，再以 Toluidine blue 染色。切片製備完成後，以光學顯微鏡 (Olympus IX70, Olympus Optical Co., Ltd., Japan) 進行觀察與分析。

### 3-2-5-2 觀察切片

切片的觀察重點如下：

1. 再生神經組織的型態，神經幹的結構是否完整。神經外膜、內膜及圍神經膜是否有成長。
2. 神經膜內是否有髓鞘化的軸突生成。
3. 再生神經組織中是否已有血管的形成。

### 3-2-6 組織學定量分析

#### 3-2-6-1 拍攝照片

顯微鏡在 40 倍下，先以接於顯微鏡的數位相機 (Nikon Coolpix 950, Japan) 拍下再生神經組織切片的全樣貌圖。然後在顯微鏡 400 倍



下，可以清楚看到髓鞘化的軸突與新生的血管。在這個倍率下所拍攝的照片適合用於彩色影像分析軟體（Image-Pro Lite Version 3.0, Media Cybernetics, USA）進行分析與計算切片中髓鞘化的軸突。不過，由於在顯微鏡 400 倍下的視野有可能無法涵蓋切片的全部，所以沿著再生神經組織的直徑取三個區塊來拍攝，分別為直徑的四分之一、中點與四分之三等三處。若在 400 倍下可拍攝到全景，則拍攝一張。

### 3-2-6-2 實驗步驟與方法

觀察再生神經組織切片之後，以接於顯微鏡的數位相機（Nikon Coolpix 950, Japan）拍下數位影像。各培養格取三個定點拍攝三張，再利用彩色影像分析軟體（Image-Pro Lite Version 3.0, Media Cybernetics, USA）進行計算。最後利用 SPSS 12.0 版統計軟體，採單因子變異數分析（one-way ANOVA）法分析。本實驗統計上檢定的第一誤差設定在  $< 0.05$ ，若  $P < 0.05$ ，則被認定有統計上的明顯差異。計算與分析的項目包括有再生神經組織切面的全部面積、神經內膜面積、神經內膜面積佔再生神經全部面積的百分比、再生血管數目、再生血管平均面積、再生血管面積百分比、髓鞘化軸突數目、髓鞘化軸突的密度、髓鞘化軸突的面積百分比。



## 第四章 結果

### 第一節 觀察實驗大鼠外表之變化

#### 4-1-1 一般外觀觀察結果

在坐骨神經接合術之後，將大白鼠飼養八週。這段期間，將從外觀觀察其傷口癒合狀況，以及是否有死亡、自殘、厭食等情形。所有大鼠在術後一週，其手術傷口皆已癒合，並無縫線脫落或腫脹化膿等情形發生。所有大鼠於飼養期間皆存活，無死亡情形。

##### 1. 傷口癒合情況

在術後使用三日的口服抗生素 Pamoxicillin<sup>®</sup>，各組之大白鼠傷口癒合狀況良好，並無發生感染之情形。大白鼠會在術後一星期左右將皮膚縫合線咬斷，但不影響傷口之癒合。

##### 2. 毛色變化

神經被截斷之後，大白鼠的毛色隨著時間的增加，由原本白色轉變成淡黃色，且色澤也轉趨黯淡，並有脫落之狀況。

##### 3. 行動

大白鼠的右坐骨神經被截斷之後，初期喜歡蹣跚在籠子的角落。在一段時間之後，右肢會呈現屈曲狀態。活動時以前肢及左後肢為主，拖曳著右後肢而行，步態不穩。

##### 4. 體重變化

在手術進行前及手術結束並飼養八週後犧牲前，分別記錄大白鼠的體重變化。

#### 5. 足趾自殘

在手術後的八週觀察期，部分大白鼠有自殘的現象發生。術側的足趾被咬傷且有出血與傷口，而進一步造成潰瘍與變形，不過，大部分大白鼠足趾是完整的。

### 4-1-2 矽膠管與神經再生之觀察

經過手術之大鼠飼養八週後，再次將其麻醉後解剖，麻醉與手術步驟如前面所述。解剖後，可以藉由肉眼觀察到導管降解狀態以及神經再生情形。

#### 地龍組

1. Group A (生理食鹽水)：此組為中藥地龍之對照組。十隻大白鼠均存活，其中六隻在神經管中找到有一條白色再生的管狀物通過，四隻的神經管內僅呈現有透明液體。
2. Group B (地龍 31.25  $\mu$ g/ml)：此組之十隻大白鼠均存活，其中九隻在神經管中找到有一條白色再生的管狀物通過，只有一隻的神經管內呈現透明液體。
3. Group C (地龍 125  $\mu$ g/ml)：十隻大白鼠均存活，其中九隻在神經管中找到有一條白色再生的管狀物通過，只有一隻的神經管內呈現透明液體。
4. Group D (地龍 500  $\mu$ g/ml)：十隻大白鼠均存活，其中九隻在神經管

中找到有一條白色再生的管狀物通過，只有一隻的神經管內呈現透明液體。

### 川芎組

1. Group A (生理食鹽水)：此組為中藥川芎之對照組。八隻大白鼠均存活，其中七隻在神經管中找到有一條白色再生的管狀物通過，另一隻的神經管內呈現有透明液體。
2. Group B (川芎 1.25mg/ml)：此組之八隻大白鼠均存活，全部八隻在神經管中均找到有一條白色再生的管狀物通過。
3. Group C (川芎 12.5mg/ml)：全部八隻大白鼠均存活，全部大白鼠在其神經管中均找到有一條白色再生的管狀物通過。
4. Group D (川芎 125mg/ml)：全部八隻大白鼠均存活，其中七隻在神經管中找到有一條白色再生的管狀物通過，一隻的神經管內呈現有透明液體。

#### 4-1-3 神經再生之成功率

若將神經管內有白色再生的管狀物通過的大白鼠視為其神經組織再生成功，則各組神經再生成功機率如下：

#### 地龍組 (圖 4-1)

1. Group A：生理食鹽水組為  $6/10 = 60\%$
2. Group B：地龍  $31.25 \mu\text{g/ml}$  為  $9/10 = 90\%$

3. Group C : 地龍 125  $\mu$ g/ml 為 9/10 = 90%

4. Group D : 地龍 500  $\mu$ g/ml 為 9/10 = 90%

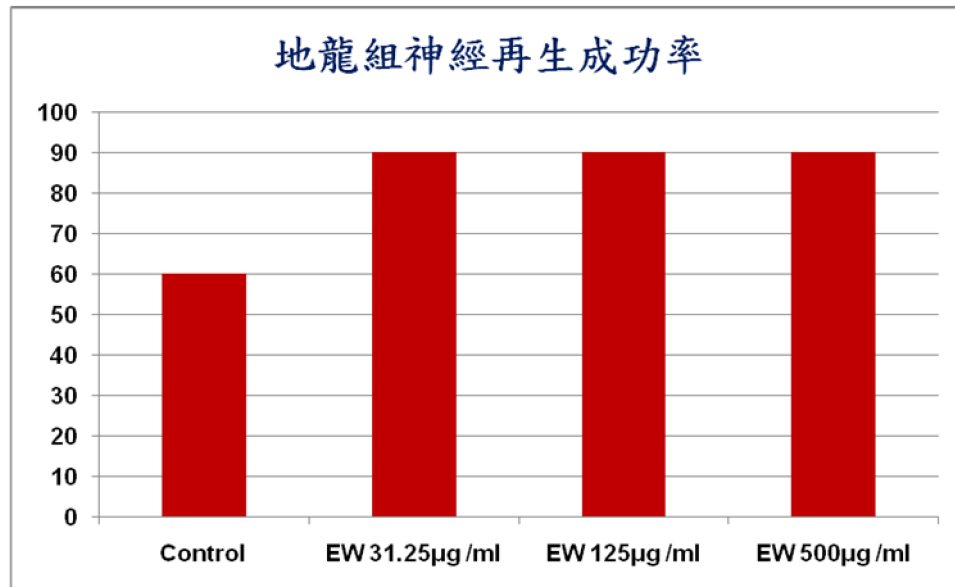


圖 4-1 : 中藥地龍組對神經再生之成功率

#### 川芎組 (圖 4-2)

1. Group A : 生理食鹽水組為 7/8 = 87.5%

2. Group B : 川芎 1.25 mg/ml 為 7/8 = 87.5%

3. Group C : 川芎 12.5 mg/ml 為 8/8 = 100%

4. Group D : 川芎 125 mg/ml 為 8/8 = 100%

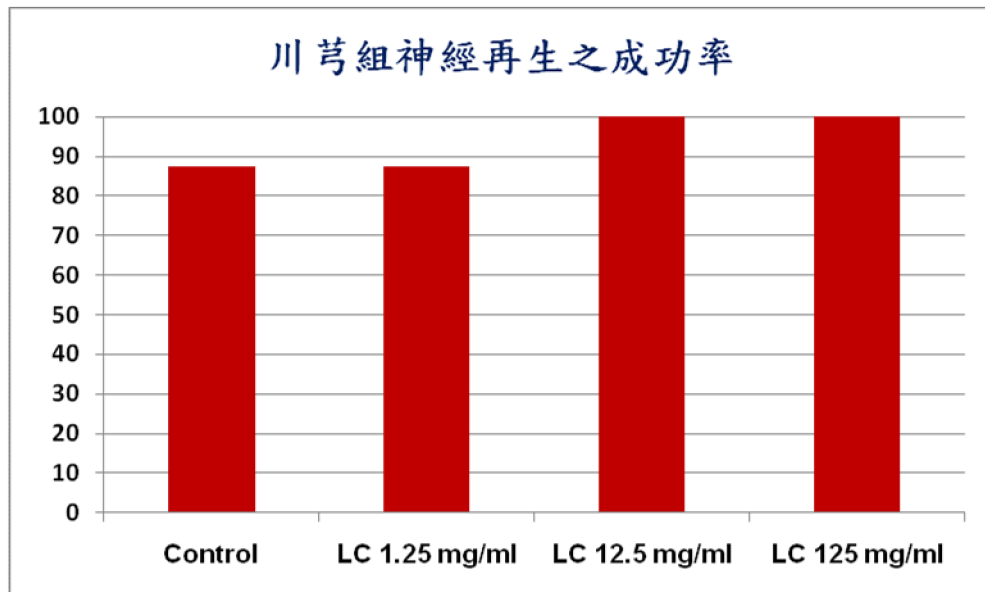


圖 4-2：中藥川芎組對神經再生之成功率

## 第二節 神經電生理檢測結果

於手術八週後，我們針對大鼠施術端的坐骨神經進行電生理檢測，以觀察坐骨神經功能恢復的情形，並評估實驗組與對照組的神經功能是否具有顯著差異。電生理評估的項目主要包括有神經肌肉動作電位（muscle action potential, MAP）的潛期、波期、振幅、波下面積、神經傳導速度等數值。

### 4-2-1 振幅 (amplitude)

振幅，係指動作電位主波的高度。一般而言，神經的功能愈好，對刺激所產生的動作電位波體就越大，其振幅也會較大，反之則亦然。我們針對實驗中兩組中藥進行了電生理檢測，其結果如下：



## 地龍組

針對地龍組的 A、B、C、D 四小組進行了電生理檢測的振幅評估，可以發現實驗組的 B 與 D 組相對於對照組在統計上有顯著的差異 ( $P < 0.05$ )。其中 D 組，也就是在導管內添加  $500 \mu\text{g/ml}$  地龍萃取液對神經功能的恢復，在振幅平均值上看來是有幫助的 (圖 4-3，表 4-1)。

表 4-1：地龍 A、B、C、D 四組振幅比較

組別	A	B	C	D
平均值 (mV)	18.5	11.3	19.4	22.2
標準差	7.28	5.58	6.78	7.2
F 值	4.772			
p 值	0.007			

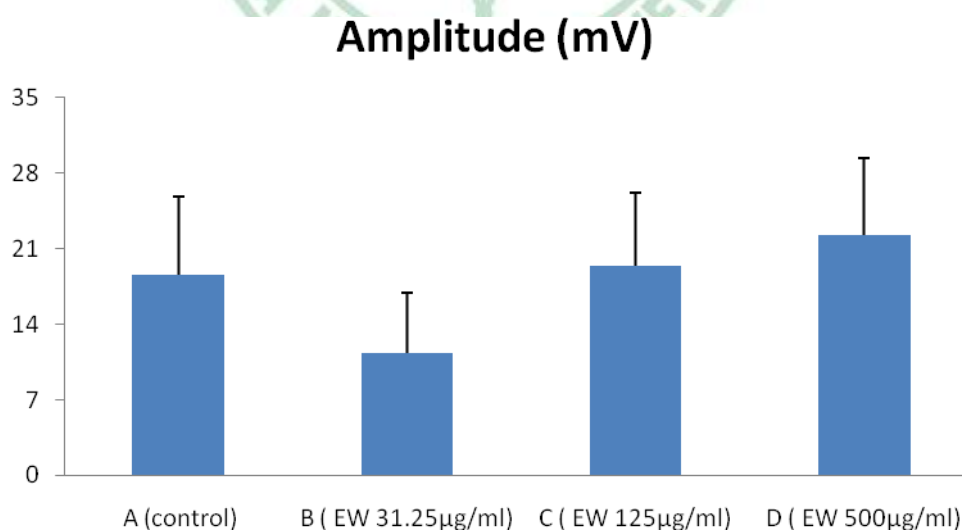


圖 4-3：地龍 A、B、C、D 四組振幅比較

## 川芎組

針對川芎組的 A、B、C、D 四小組進行了電生理檢測的振幅評估，可以發現實驗組的 B 與 D 組相對於 C 組在統計上有顯著的差異 ( $P < 0.05$ )，但對於對照組則沒有明顯的差異。對於為何實驗 C 組相對於其他組別會產生較低的平均值，將是未來值得去探討的一個方向 (圖 4-4，表 4-2)。

表 4-2：川芎 A、B、C、D 四組振幅比較

組別	A	B	C	D
平均值 (mV)	21.9	23.01	15.72	23.04
標準差	4.84	5.88	5.51	4.23
F 值	5.065			
p 值	0.007			

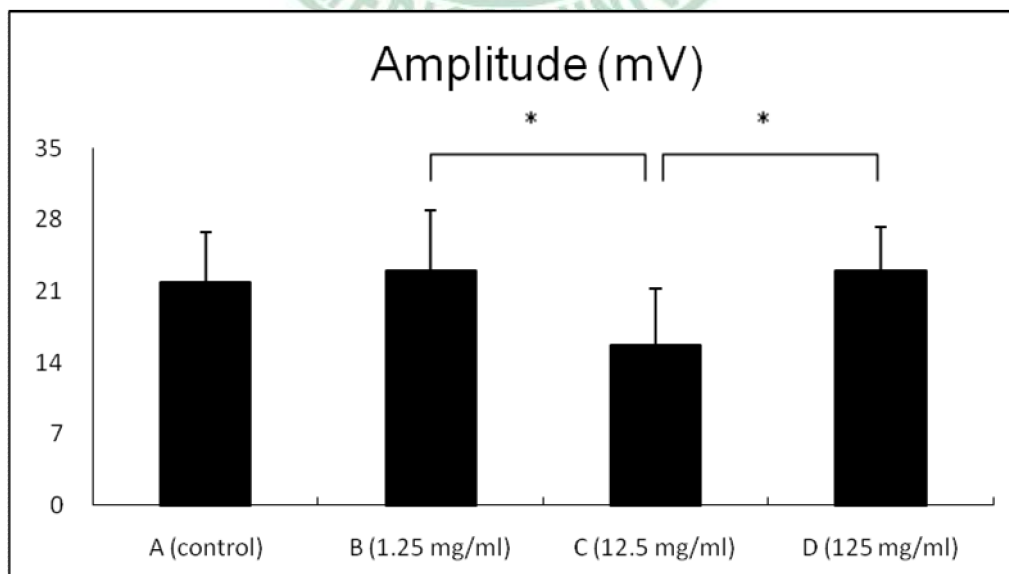


圖 4-4：川芎 A、B、C、D 四組振幅比較

## 4-2-2 波下面積

波下面積，係指動作電位主波下的面積，代表振幅與波期的總和，可以更精確的顯示神經纖維的數量。若神經功能愈好或再生神經數目愈多，則對刺激所產生的動作電位波體較大，而其波下面積也會較大。我們針對實驗中兩組中藥進行了電生理檢測，統計其波下面積，其結果如下：

### 地龍組

針對地龍組的 A、B、C、D 四小組進行了波下面積統計，可以發現實驗組的 B 與 D 組相對於對照組在統計上有顯著的差異 ( $P < 0.05$ )。其中 D 組，也就是在導管內添加  $500 \mu\text{g/ml}$  地龍萃取液對神經功能的恢復，在波下面積平均值上看來是有幫助的 (圖 4-5，表 4-3)。

表 4-3：地龍 A、B、C、D 四組波下面積比較

組別	A	B	C	D
平均值 (mVms)	12.5	9.4	12.9	15.4
標準差	5.12	6.21	3.26	4.18
F 值	2.624			
p 值	0.065			

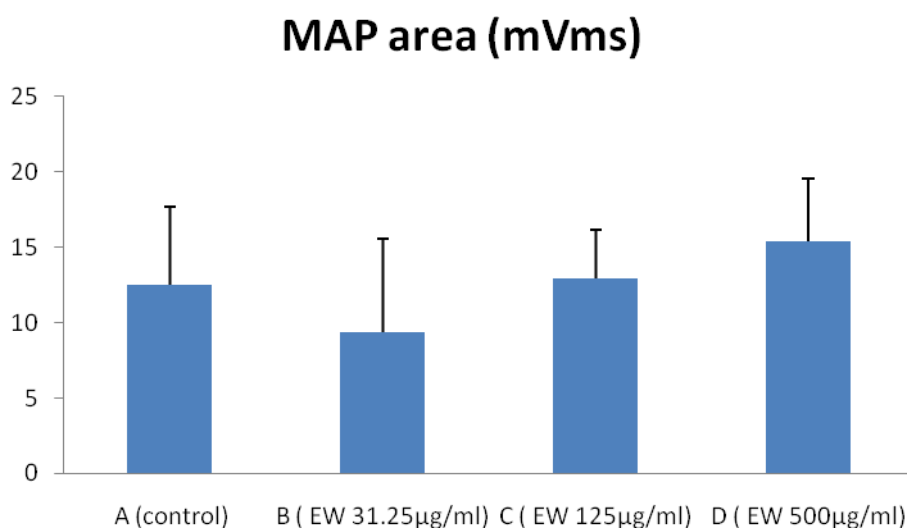


圖 4-5：地龍 A、B、C、D 四組波下面積比較

#### 川芎組

針對川芎組的 A、B、C、D 四小組進行了波下面積統計，可以發現實驗組的 B 與 D 組相對於 C 組在統計上有顯著的差異 ( $P < 0.05$ )，但對於對照組則沒有明顯的差異 (圖 4-6，表 4-4)。

表 4-4：川芎 A、B、C、D 四組波下面積比較

組別	A	B	C	D
平均值 (mVms)	14.95	17.04	10.25	15.31
標準差	5.72	5.68	4.35	3.87
F 值	4.407			
p 值	0.012			

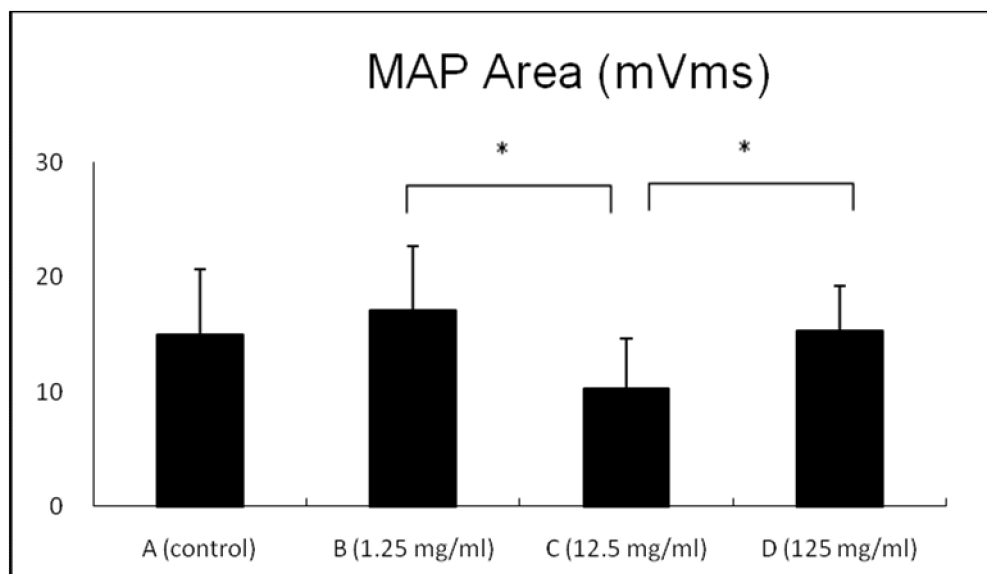


圖 4-6：川芎 A、B、C、D 四組波下面積比較

#### 4-2-3 神經傳導速率 (nerve conduction velocity, NCV)

神經傳導速率，係指神經對刺激反應所產生動作電位的傳導速率。神經的功能愈好，傳導速率就會愈快。我們針對實驗中兩組中藥進行了電生理檢測，統計其神經傳導速率，其結果如下：

##### 地龍組

針對地龍組的 A、B、C、D 四小組進行了神經傳導速率統計，可以發現不管是實驗組還是對照組均無統計上有顯著的差異（圖 4-7，表 4-7）。



表 4-5：地龍 A、B、C、D 四組神經傳導速率的比較

組別	A	B	C	D
平均值 (m/s)	25.5	29.9	26.7	24.4
標準差	6.54	7.82	4.4	5.94
F 值	1.421			
p 值	0.252			

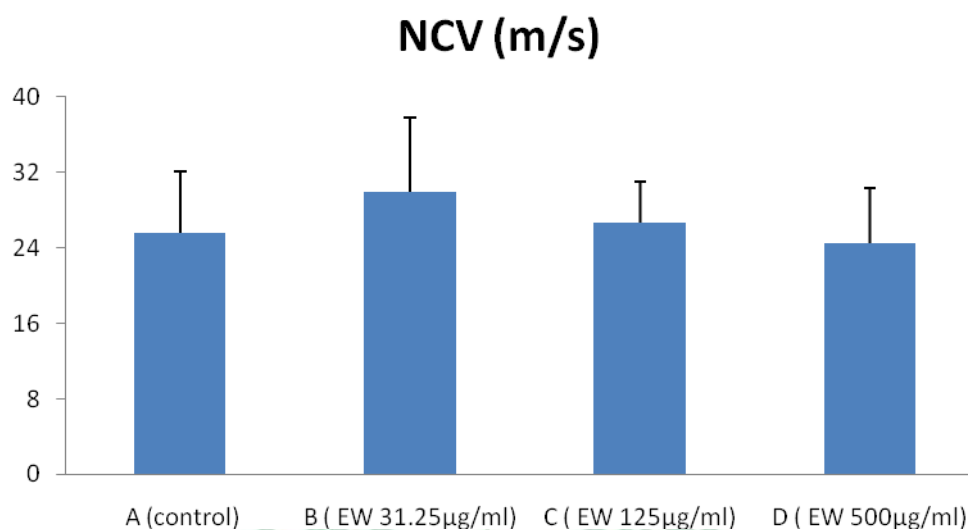


圖 4-7：地龍 A、B、C、D 四組神經傳導速率的比較

### 川芎組

針對川芎組的 A、B、C、D 四小組進行了神經傳導速率統計，可以發現實驗組的 B 與 C 組相對於 D 組在統計上有顯著的差異 ( $P < 0.05$ )，但對於對照組則沒有明顯的差異 (圖 4-8，表 4-6)。

表 4-6：川芎 A、B、C、D 四組神經傳導速率的比較

組別	A	B	C	D
平均值 (m/s)	26.3	22.9	23.0	28.3
標準差	4.0	2.7	2.4	4.2
F 值	4.284			
p 值	0.014			

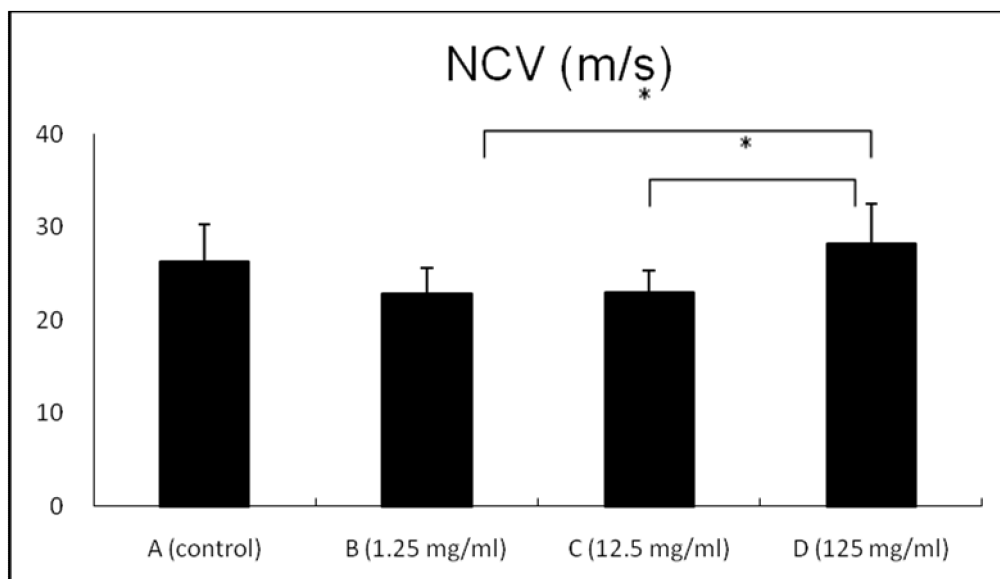


圖 4-8：川芎 A、B、C、D 四組神經傳導速率的比較

### 第三節 組織切片觀察與分析

#### 4-3-1 術側腓腸肌切片觀察

將地龍組中的實驗動物取其術側腓腸肌中段，固定、脫水、包埋、切片、染色後，放置於顯微鏡下觀察。正常之腓腸肌切片可見肌纖維呈現對稱多角形的緊密排列，細胞核則位於肌細胞的周圍（圖 4-9）

。在坐骨神經在截斷並經過手術值管後，可以發現術側橫紋肌有萎縮的現象，肌纖維不管是實驗組或對照組，直徑皆明顯變小，肌纖維間的間隙變寬且較疏鬆，而細胞核則明顯增多（圖 4-10）。雖然在含有再生軸突的神經束中有明顯的神經刺激與傳導，不過，經過電生理檢測後卻推翻上述的發現。我們發現，雖然再生的神經束中含有大量的軸突，但軸突數量的增多並不一定會造成更大的肌肉收縮，反之亦然。

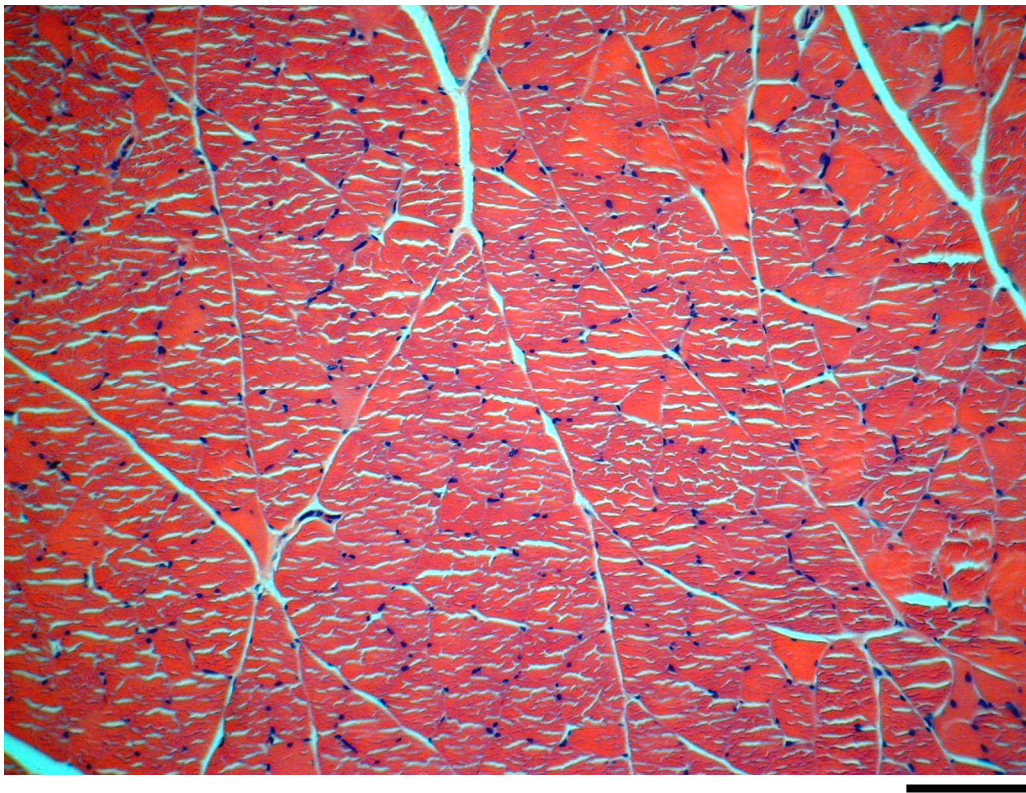


圖 4-9：正常之腓腸肌切片



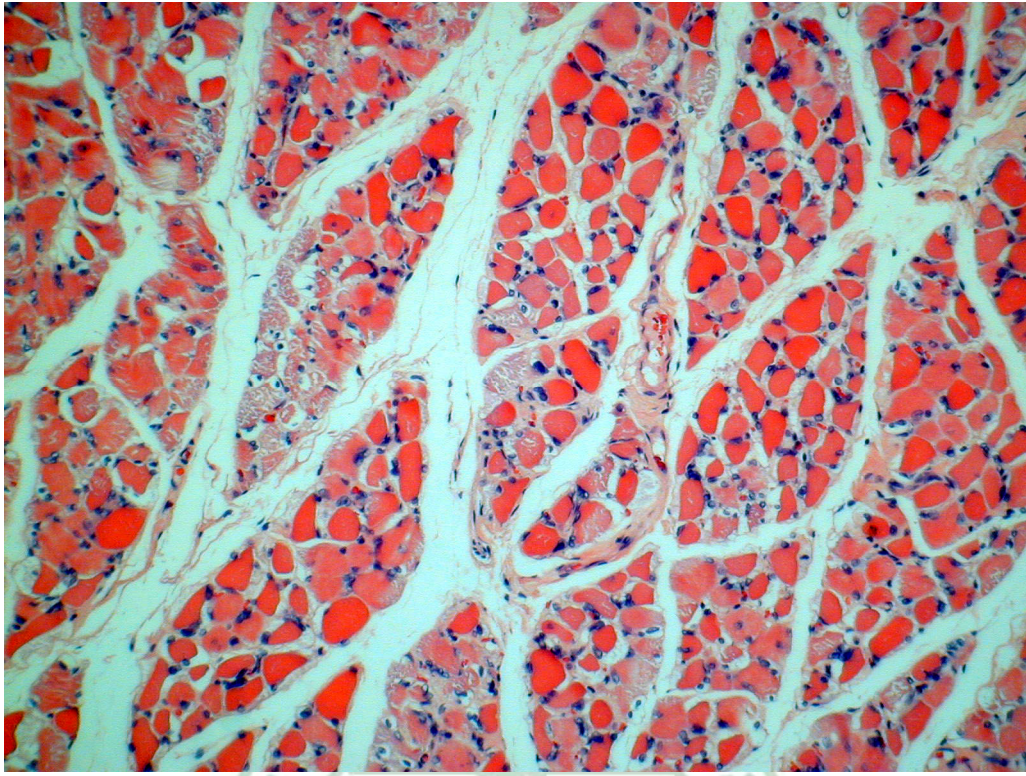


圖 4-10：坐骨神經在截斷並經過手術值管後之腓腸肌切片

#### 4-3-2 再生神經組織學切片分析

##### 4-3-2-1 切片觀察

在進行完電生理測試後，我們將大白鼠犧牲並將其矽膠管中白色之再生物質製成切片進行觀察。圖 4-11 ~ 4-13 及圖 4-15~4-17 是給藥組的再生神經組織橫切面之圖片。透過光學顯微鏡，我們可以觀察到，不管是添加中藥地龍或是川芎而再生之神經組織，均呈現出與原神經組織相似的顯微構造。其中，我們可以觀察到神經外膜 (epineurium)、神經束膜 (perineurium)、神經纖維以及週邊的結締組織。此外，透過 Toluidine blue 的染色，在神經內膜 (endoneurium) 內可清楚看到許多髓鞘化的軸突 (myelinated axons)，而許旺細胞核散見在軸突當中。

此外，血管也在神經外膜與神經內膜中出現。我們在對照組的切片中（圖 4-14 和圖 4-18）也觀察到相同於給藥組的結構。不過，相對於對照組，給藥組中的再生神經明顯擁有較高的軸突數量，尤其是在地龍濃度  $31.25 \mu\text{g/ml}$  與川芎濃度  $1.25 \text{mg/ml}$  的切片中。而川芎濃度  $125 \text{mg/ml}$  的切片中的軸突數則明顯少於對照組。

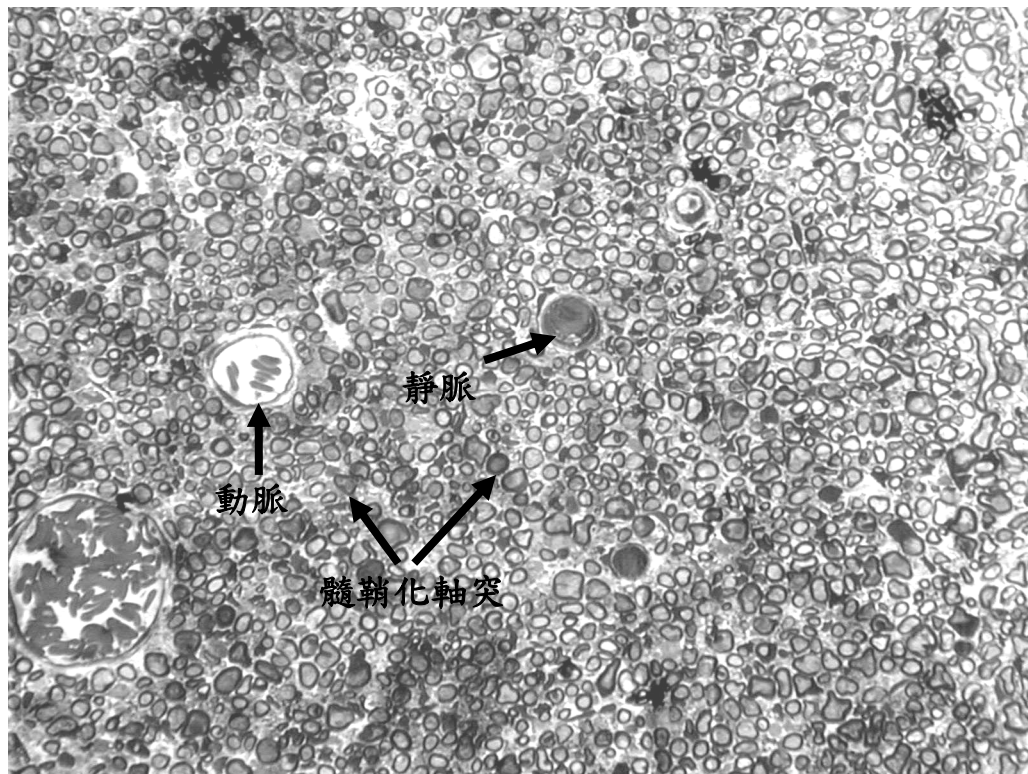


圖 4-11：中藥地龍濃度  $31.25 \mu\text{g/ml}$  再生神經組織切片



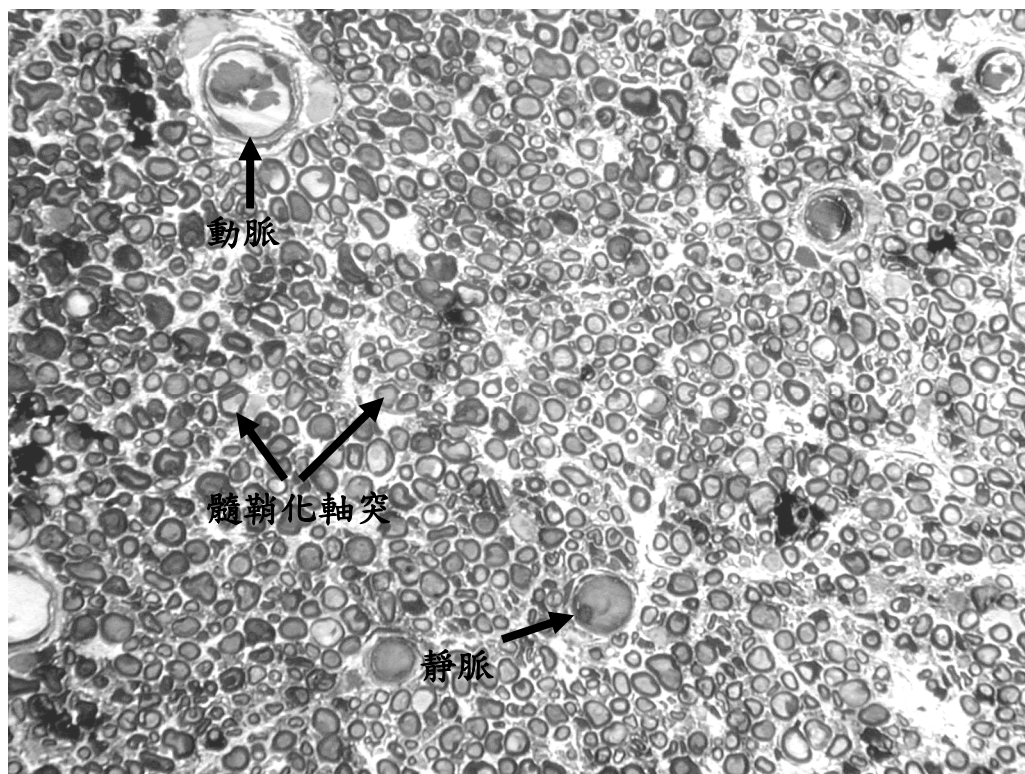


圖 4-12：中藥地龍濃度 125  $\mu\text{g/ml}$  再生神經組織切片

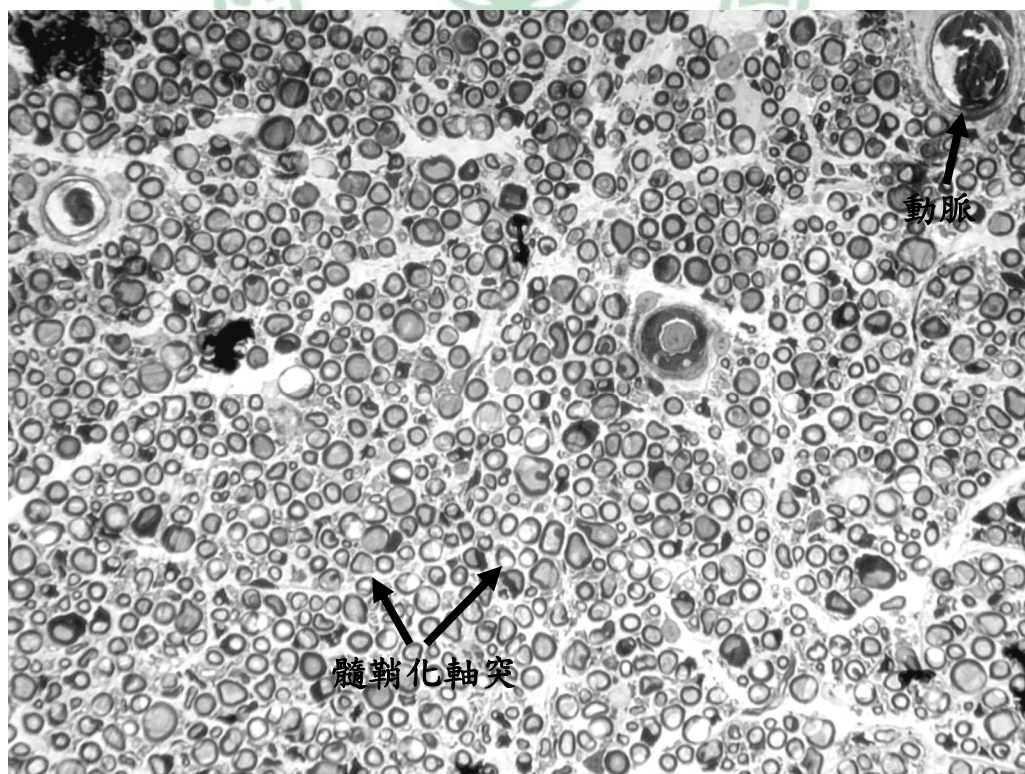


圖 4-13：中藥地龍濃度 500  $\mu\text{g/ml}$  再生神經組織切片



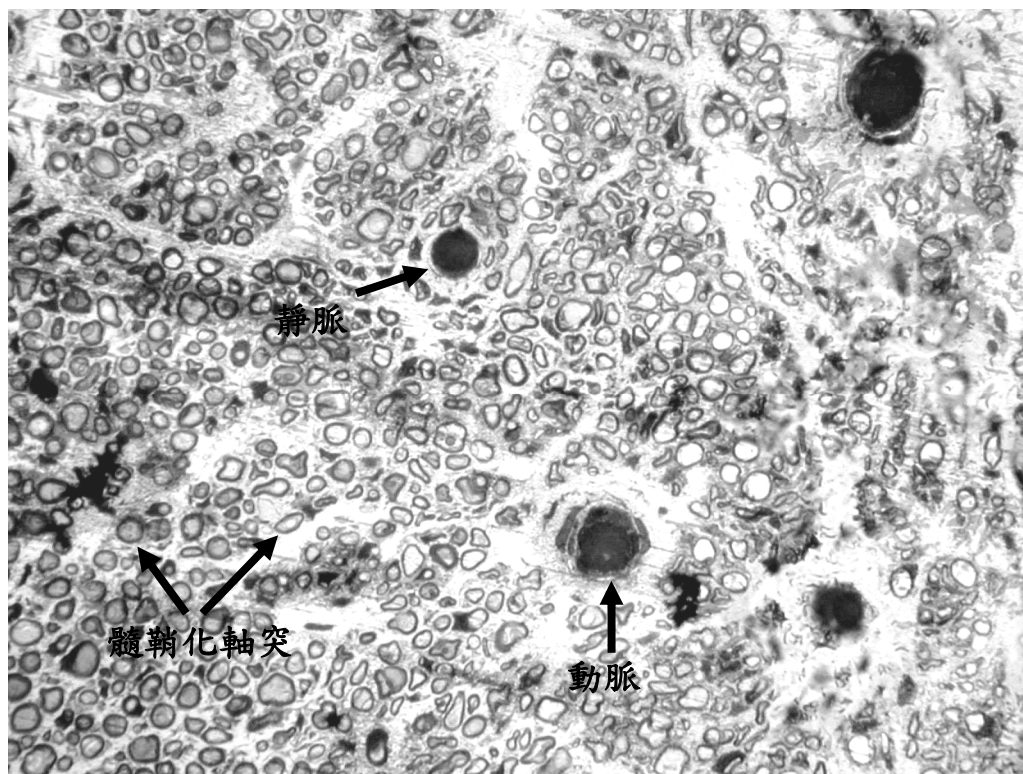


圖 4-14：中藥地龍組之對照組再生神經組織切片

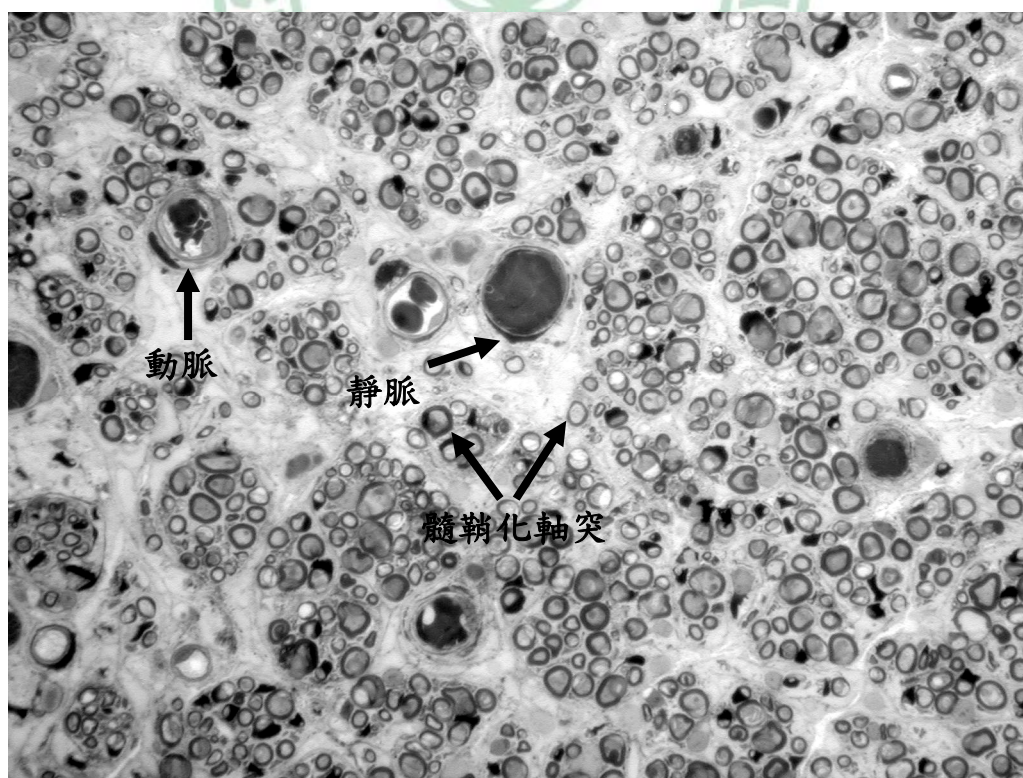


圖 4-15：中藥川芎濃度 1.25mg/ml 再生神經組織切片



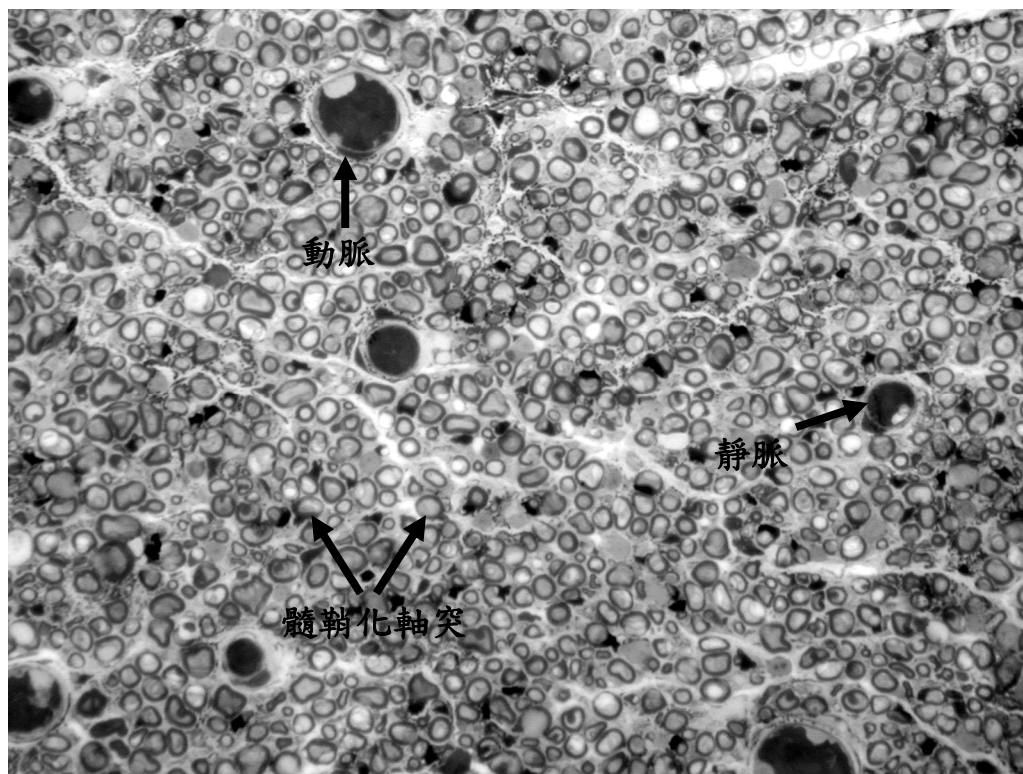


圖 4-16：中藥川芎濃度 12.5mg/ml 再生神經組織切片 (400X)

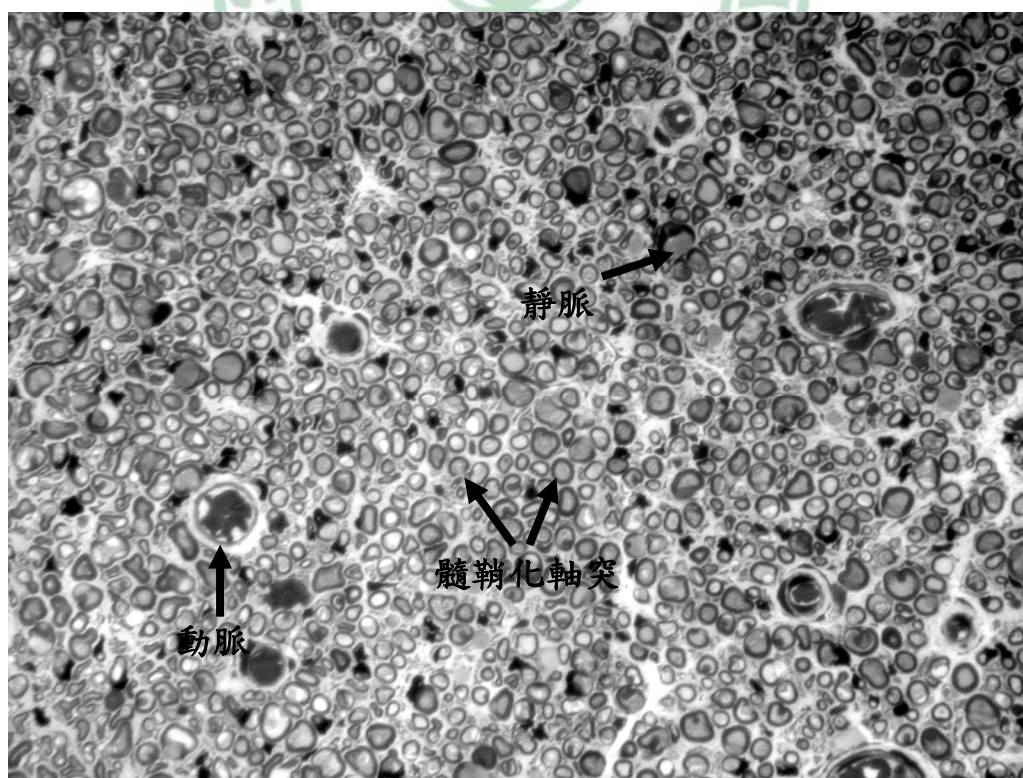


圖 4-17：中藥川芎濃度 125mg/ml 再生神經組織切片

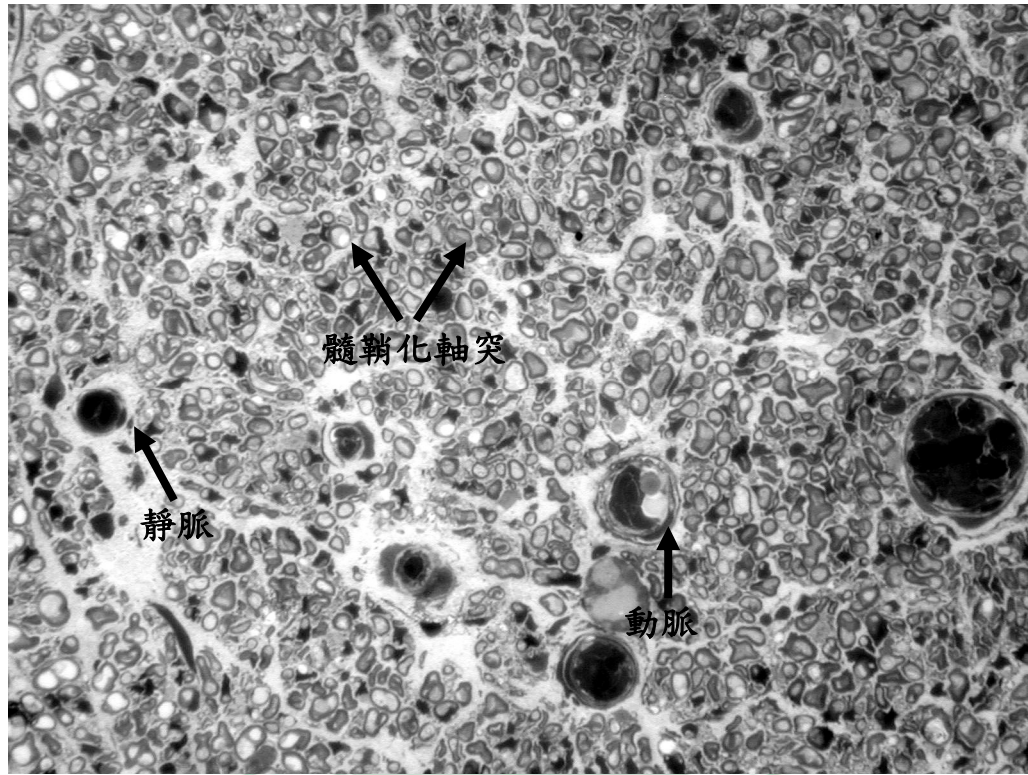


圖 4-18：中藥川芎組之對照組再生神經組織切片

#### 4-3-2-2 統計分析

觀察再生神經組織切片之後，利用接於顯微鏡的數位相機拍下數位影像，並採用彩色影像分析軟體（Image-Pro Lite Version 3.0, Media Cybernetics, USA）進行計算。最後利用 SPSS 12.0 版統計軟體，採單因子變異數分析（one-way ANOVA）法分析。本實驗統計上檢定的第一誤差設定在  $< 0.05$ ，若  $P < 0.05$ ，則被認定有統計上的明顯差異。

#### 再生神經全部面積

#### 地龍組



針對地龍組的 A、B、C、D 四小組進行了再生神經全部面積之統計，給藥組比對照組有增加之情形，但並未達到統計上的顯著差異（圖 4-19，表 4-7）。

表 4-7：地龍 A、B、C、D 四組再生神經全部面積之統計

組別	A	B	C	D
平均值 (mm <sup>2</sup> )	0.34	0.43	0.36	0.39
標準差	0.06	0.31	0.16	0.06
F 值	0.425			
p 值	0.737			

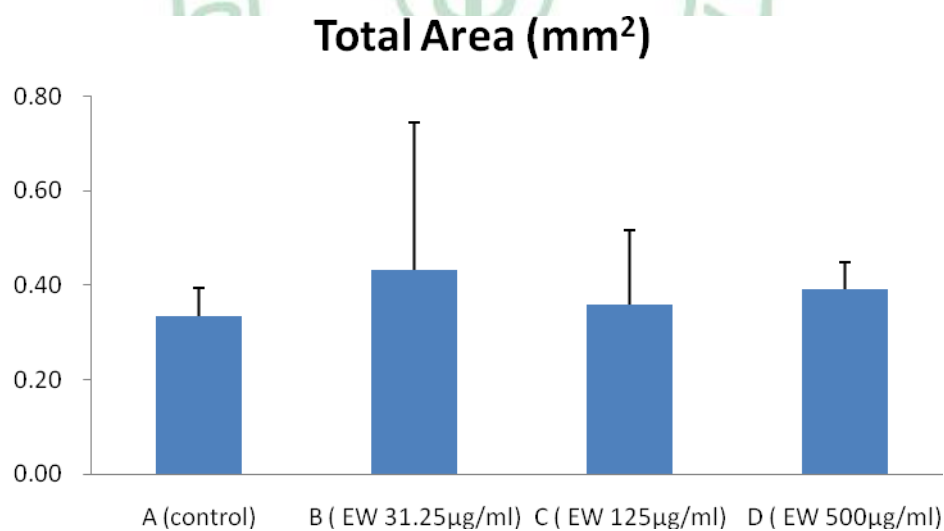


圖 4-19：地龍 A、B、C、D 四組再生神經全部面積之統計

川芎組



針對川芎組的 A、B、C、D 四小組進行了再生神經全部面積之統計，B 組相對於對照組有增加之情形，但並未達到統計上的顯著差異（圖 4-20，表 4-8）。

表 4-8：川芎 A、B、C、D 四組再生神經全部面積之統計

組別	A	B	C	D
平均值 (mm <sup>2</sup> )	0.31	0.39	0.32	0.3
標準差	0.09	0.17	0.08	0.09
F 值	0.888			
p 值	0.46			

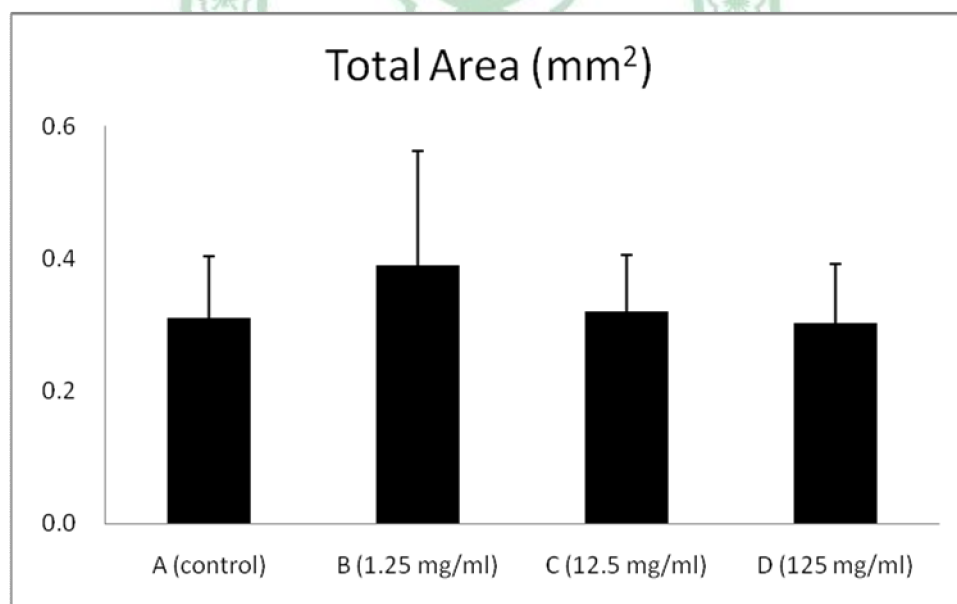


圖 4-20：川芎 A、B、C、D 四組再生神經全部面積之統計

### 再生血管數目

## 地龍組

針對地龍組的 A、B、C、D 四小組進行了再生血管數目之統計，四組數值並無明顯差異（圖 4-21，表 4-9）。

表 4-9：地龍 A、B、C、D 四組再生血管數目之統計

組別	A	B	C	D
平均值	88	72	95	84
標準差	36	35	75	31
F 值	0.355			
p 值	0.786			

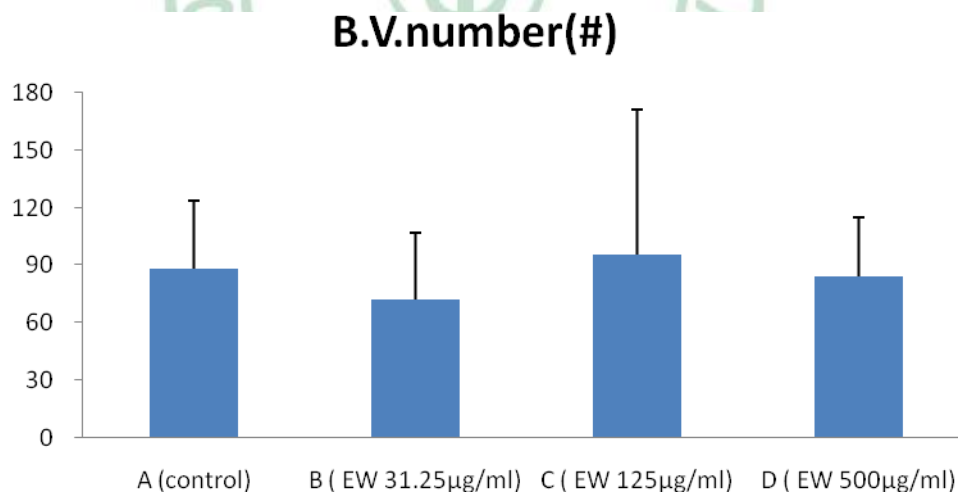


圖 4-21：地龍 A、B、C、D 四組再生血管數目之統計

## 川芎組

針對川芎組的 A、B、C、D 四小組進行了再生血管數目之統計，C、D 兩組相對於 A 組有明顯差異（圖 4-22，表 4-10）。

表 4-10：川芎 A、B、C、D 四組再生血管數目之統計

組別	A	B	C	D
平均值	160	145	106	112
標準差	59	65	39	46
F 值	1.560			
p 值	0.209			

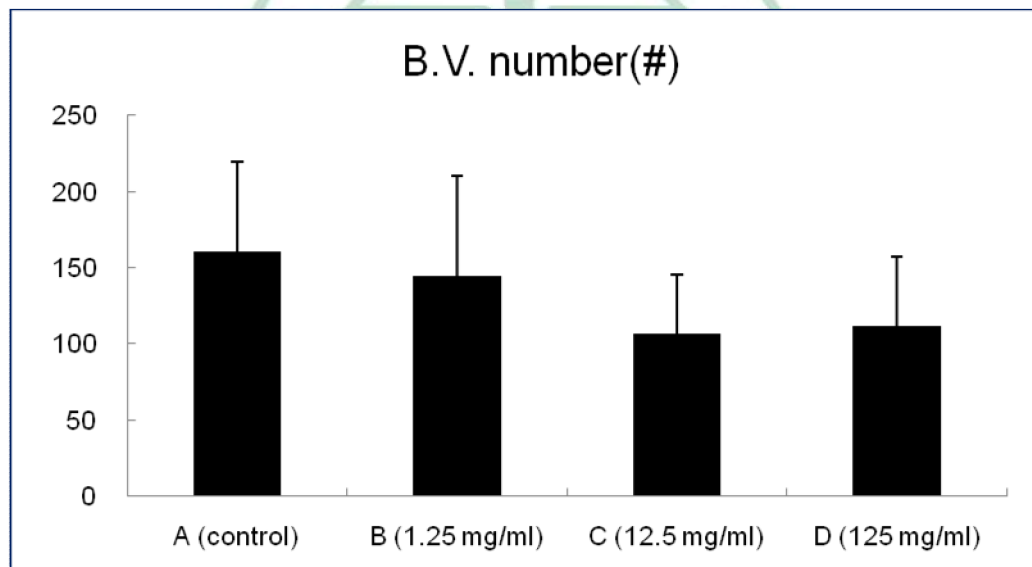


圖 4-22：川芎 A、B、C、D 四組再生血管數目之統計

### 髓鞘化軸突數目

### 地龍組

針對地龍組的 A、B、C、D 四小組進行了髓鞘化軸突數目之統計，B 組相對於其他三組有顯著的差異 ( $P < 0.05$ ) (圖 4-23，表 4-11)。

表 4-11：地龍川芎 A、B、C、D 四組髓鞘化軸突數目之統計

組別	A	B	C	D
平均值	4754	7673	5619	5052
標準差	2411	3301	3200	1643
F 值	1.973			
p 值	0.139			

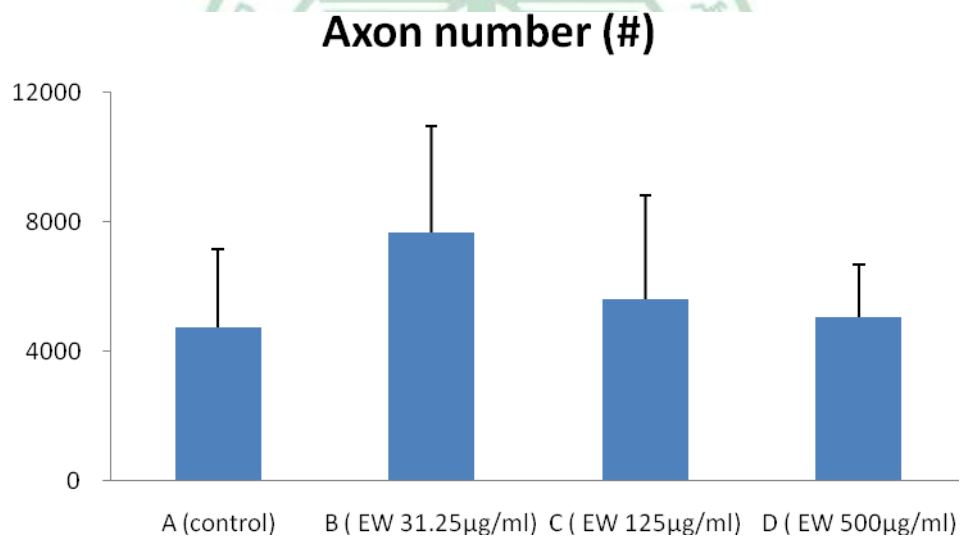


圖 4-23：地龍 A、B、C、D 四組髓鞘化軸突數目之統計

### 川芎組

針對川芎組的 A、B、C、D 四小組進行了髓鞘化軸突數目之統計，B 組相對於 D 組有顯著的差異 ( $P < 0.05$ ) (圖 4-24，表 4-12)。

表 4-12：川芎川芎 A、B、C、D 四組髓鞘化軸突數目之統計

組別	A	B	C	D
平均值	5705	6548	5110	4390
標準差	1652	2159	1623	1008
F 值	2.319			
p 值	0.009			

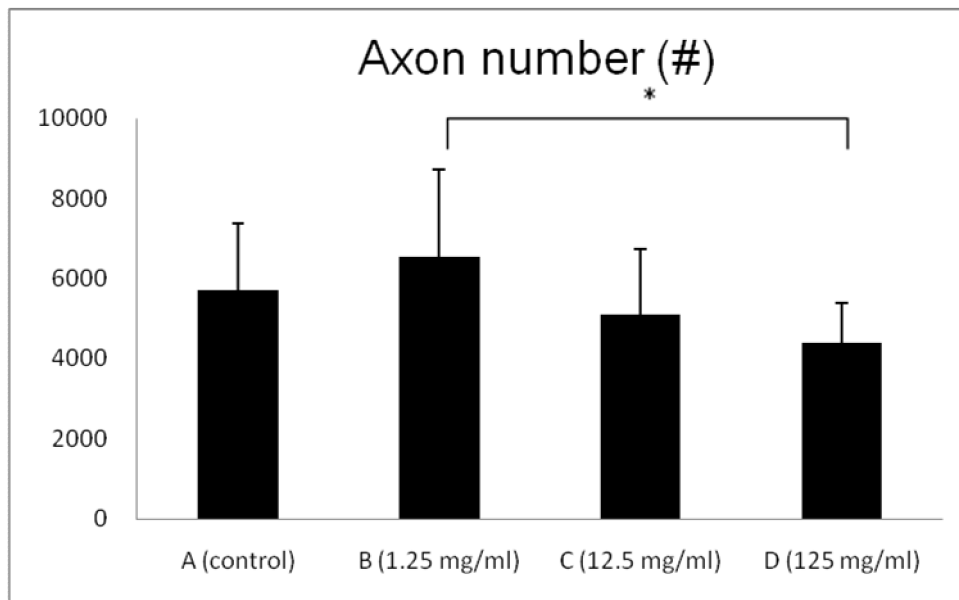


圖 4-24：川芎 A、B、C、D 四組髓鞘化軸突數目之統計



## 第 五 章

### 討 論

隨著科技的進步，各種器械化或高科技的電子產品越來越滲透進入人類的生活中。雖然這樣的改變其意義在於改善人類的的生活並提高各種工作的效率，但也逐漸提高了人類遭遇意外的風險。而意外後對人體所造成的傷害中，以神經損傷是最難處理與治療的。

神經再生的過程是相當複雜的，生物體內神經分布區域的些許差異就會產生神經再生難易程度的不同。例如，在哺乳類動物體內的神經系統就區分成中樞神經及周邊神經系統。由於中樞神經系統內的神經細胞大多不含髓鞘，故相對周邊神經系統的而言，其再生能力有限且困難許多。神經在損傷後，若沒有經過適當的處理，很容易產生神經瘤，而這將嚴重影響受損神經恢復的狀況與功能。為了避免神經瘤的發生及解決受損神經的再生問題，近年來透過各項研究發展出不同的神經修補技術。

神經修復的重點在於採用何種方法及材料，可以讓神經的再生更為完好並恢復到受損前的功能，而神經斷裂後的間隙則是影響修復結果的最重要因素之一，故選用何種神經接合術與材料即成為了修復神經時最重要的考慮因素。神經管接合術可視為在目前眾多神經修復技術中，針對神經斷裂間隙較大時最好的治療方式。其使用的矽膠製神經管具有高生物適應性及透明、高柔軟度等優點，除了可以避免體內產生的排斥反應外，還具有導引及支持再生神經纖維成長，同時也提供一個絕

緣的環境，將會阻礙神經再生的細胞及其分泌物阻擋在管外。不過，神經管畢竟只能提供一個骨架，而無法促進神經細胞的再生。因此，為了使神經管中的神經細胞可以在最短的時間內，跨過神經間距完成再生，神經管內可以添加一些能夠刺激神經再生的物質以利神經細胞的生長。神經管內的填充物除了有一般熟知的神經生長因子、膠原蛋白等，近年來一些研究也證實，某些中藥萃取液也有加強神經生長因子促進神經再生的效果。

傳統中草藥被應用在臨床疾病的治療已有數千年的歷史。其最早的使用記錄可追溯到商朝時期（約公元前 1556 年），而最早涉及藥物紀錄的書籍，則為周朝（約公元前 1046 年）的「詩經」<sup>[91]</sup>。由於傳統中草藥的發展與應用數千年來均是經由各醫家的經驗累積傳承，因此其臨床上的應用一直被現代醫學視為一項沒有科學根據的傳統民俗療法。不過，隨著時代與科技的進步，近年來大量人力投入中草藥的研究，並將中草藥以現代科學的方式進行各種標準化的試驗，使得中醫藥治療可以逐漸與現代臨床醫學結合，甚至在世界的舞台上佔有重要的一席之地。例如，在醫學工程方面，生物醫學材料與中草藥的結合，竟然能夠強化受損的周邊神經治療效果。將許旺氏細胞與中草藥同時填充於矽膠管內，並將矽膠管當作一個架橋植入被截斷坐骨神經之老鼠，其結果竟是神經的再生成功<sup>[19, 20]</sup>。此一巧妙的結合與具創造力的研究證明了中草藥對受損神經的再生是一項具有潛力的研究方向。

中藥方劑補陽還五湯（Buyang Huanwu Decotion）已被證實對促進神經再生有明顯的功效<sup>[21]</sup>，而此方劑是由多種中藥所組成。為探討其組成中，何種中藥對於神經再生是具有促進之功效，故本次實驗中，我

們選擇了地龍與川芎作為研究之對象。我們知道，體內各細胞組織可以正常的運作，都是有賴於體內微循環系統正常的運轉。微循環系統最主要的功能就是將養分運送到組織並將細胞之排泄物移走。此外，其他功能還包括了有運送氧氣、控制離子的平衡、移走組織內的二氧化碳、調節組織的酸鹼平衡等。當我們的細胞組織發生損傷時，其周邊的微循環系統也會跟著受到破壞。這時，體內會啟動一系列的免疫反應來進行防禦與保護作用。與此同時，破裂的血管會產生收縮、形成血小板栓塞或是採用血液凝固的機制來防止血液的流失。這一系列的反應最終形成中醫所論述的「血瘀」症狀。

「血瘀」的形成會使血液失去正常的濡養作用，而反過來會影響全身或局部氣血的運行，使全身或局部組織得不到新血的供養，造成疼痛或身體的不適，這是中醫所謂「瘀血不去，新血不生」的原理。清朝活血化瘀大家王清任在其著作《醫林改錯》中提到：「皮裡內外血瘀，阻塞血路，新血不能養成。」亦是說明了這個原理。民國醫家張錫純在《醫學衷中參西錄》中說道：「虛勞者必血痺，而血痺之甚、又未有不虛勞者。並知治虛勞並先治血痺，治血虛亦即所以治虛勞也。」認為虛勞此種元氣虛弱勞倦疾患的病理關鍵是「血瘀經絡阻塞」，氣血虛衰無力推行血液運行，故用破血行瘀配合養血的藥物治療，可使瘀血去而產生新血。

中醫對於血分的治療，不外乎補血、止血與活血三條途徑。就一般來說，補血藥用於血虛貧血，止血藥用於出血，而活血藥則用於瘀血，補血的同時為避免瘀虛留著，阻礙新血的生成，故要輔以活血藥物。活血化瘀藥具有止痛鎮靜、疏通經絡、破瘀散結、解毒消腫、活血止血、



祛瘀生新等多種作用，所以適應證非常廣泛，並不局限於瘀血證才可使用。而從現代醫學的機理來看，活血化瘀藥具有改善血液流變性，防止血栓形成，抑制血小板凝集，興奮造血系統，改善微循環等生理功能等作用，故被廣泛應用於多種心腦血管系統疾病，其中還包括了組織的修復與再生。

中醫認為：「脈道暢通，血流無阻，迴圈不已，臟腑有養，始得安康。」；若血瘀不流或脈道堵塞，則臟腑組織失養，而疾病乃生。這與我們所探討的神經細胞再生實有不謀而合之處。當神經細胞受損而造成周邊循環系統的破壞，其血液的供給量將會減少，而組織細胞再生所需之營養物質、氧氣等將無法被有效的運送到當地。另一方面，細胞之排泄物也無法從細胞中被移出。這樣的結果將是有礙於細胞之再生作用。因此，我們依據中醫的活血化瘀治療的原理，選擇了地龍與川芎作為本次研究的標的。

地龍又名蚯蚓，為常用中藥，其作用歷史已有數千年。其最早的記載大約是於《詩經》中<sup>[93]</sup>。《神農本草經》將其列為下品，其後歷代醫學著作均有記載。根據現代研究文獻指出，地龍不僅對於促進血液循環以消除瘀血（stasis）<sup>[23]</sup>有其作用，甚至可以促進皮膚傷口之癒合<sup>[24]</sup>。川芎則最早記載於《神農本草經》<sup>[94]</sup>，而根據現代研究文獻指出，川芎的有效成分如阿魏酸（ferulic acid）、川芎醞內酯（senkyunolide）、槁本內酯（ligustilide）、川芎嗪（Tetramethylpyrazine）等，除了有抗血小板凝集的功能<sup>[95]</sup>，還可以改善腦內的微循環，並增加腦皮質流量<sup>[96]</sup>，以促進神經系統的恢復<sup>[90]</sup>。然而這兩種中藥對於截斷之神經細胞是否具有促進再生之能力則尚不清楚，所以本論文之研究方向將探討地龍與川芎

對於截斷之神經細胞之再生能力，並以大鼠做為動物模型，將其坐骨神經截斷後，以矽膠管接合並注入地龍或川芎萃取液來觀察神經再生之結果。

## 第一節 中藥地龍對於神經再生之評估

根據研究結果，在矽膠管內注入適量的地龍萃取液可以有效的促進神經軸突通過損傷神經之缺口。實驗組中的三組不同濃度地龍萃取液 (31.25  $\mu$ g/ml、125  $\mu$ g/ml、500  $\mu$ g/ml) 均成功的促使神經軸突長過缺口，其成功率達 90%，相對於對照組則只有 60% 的成功率。在組織型態統計方面，我們發現地龍萃取液相較於對照組的神經細胞，擁有較多的髓鞘化軸突數目。由於神經再生的過程中，以神經纖維髓鞘化為最終的階段，所以這重要的訊息說明了地龍萃取液不只可以增加神經再生的生成率，還可以促進再生神經的成熟。

在以往研究中，我們曾經試圖探討地龍對於神經細胞之移動、增生與存活之分子機轉。研究結果發現，地龍透過活化 MAPK (mitogen-activated protein kinase) 路徑來促進蛋白質的合成作用，提高表現量，並增加蛋白磷酸化的現象，使其活性提高，進而促使許旺氏細胞之移動<sup>[97]</sup>。此外，研究也發現地龍會藉由促進 IGF-1 (insulin-like growth factor-I) 訊息路徑及其協調 P13K/Akt 路徑蛋白之表現，來促進許旺氏細胞的存活與增生，進而導致神經的再生<sup>[98]</sup>。既然許旺氏細胞在神經再生的過程中可以提供一個支持的作用，而地龍萃取液對於許旺氏細胞的增生與存活又有促進的功能，故地龍在神經再生的過程中有其一定重要的角色。



然而，很不幸的，我們在電生理檢測方面，其結果均無法達到統計上的顯著差異。探討箇中原因，可能如下：(1) 矽膠管內的再生神經雖已接合，不過在這過程中可能發生了神經纖維間誤接的狀況，也就是一端的感覺神經纖維接上了另一端的運動神經纖維，使得再生神經在訊息傳遞時發生紊亂，而無法傳遞正確的訊息。(2) 經過八星期的恢復，雖然再生的神經已經成功接合了大白鼠之坐骨神經，但肌肉萎縮的情形依然嚴重，造成其功能尚未能完全恢復，故形成了電生理檢測的結果與神經切片所得到的結果無法吻合。(3) 不同的麻醉深度會影響肌電的反應及神經傳導速度<sup>[99]</sup>。

## 第二節 中藥川芎對於神經再生之評估

根據研究結果，在矽膠管內注入適量的川芎萃取液可以有效的促進神經軸突通過損傷神經之缺口。在實驗組中，除了在濃度 1.25 mg/ml 的川芎萃取液中有一隻大鼠的神經沒有長過缺口外，在其餘二個濃度 (12.5 mg/ml、125 mg/ml) 下的大鼠均成功的促使其神經軸突長過缺口。而對照組的部分，則也是有一隻大鼠的神經無法成功的長過缺口。對於這樣的結果，我們感到有點訝異，因為在統計上並無顯著差異。從外觀上觀察，我們發現當矽膠管內的川芎的濃度提高時，再生之神經卻變得越細。而在組織型態統計上也證實了這點，因為在 125 mg/ml 濃度下的川芎萃取液，其再生神經之髓鞘化軸突明顯少於其他三個組別。我們相信在高濃度下的劑量會對再生神經產生抑制的作用。因此，這意味著能否支持神經在生長過缺口關鍵在於適當的劑量，而劑量越高對神經再生將引起相反的反應。

我們這項發現與 Gallo 等的發現相似<sup>[100]</sup>。他們的研究發現，當小雞的背根神經節神經元生長錐（chick dorsal root ganglion neuronal growth cone）培養在包覆著神經成長因子（NGF）的聚苯乙烯微粒子中，其神經的成長會隨著 NGF 的濃度增加而受到抑制。他們相信，在神經元上的兩個接受器，分別為 trkA 和 p75NTR 將會因細胞外的促進生長物濃度增加而達到飽和，進而阻斷了細胞的反應。

Boyd 和 Gordon 等指出神經元在高劑量的腦源性促進神經生長因子（BDNF）下可能因功能性阻斷了 p75NTR 接受器而導致軸突再生的抑制<sup>[101]</sup>，也證實了 Gallo 的發現。Mohiuddin 和 Hirata 等學者在其研究中也說明，過量的促進神經生長物會抑制因軸突截斷後所誘發的生長相關蛋白（growth-associated protein 43, GAP-43），進而導致受損神經不正常的再生重組狀況<sup>[102,103]</sup>。他們的發現可以用來解釋為什麼在高劑量銀杏葉酯（bilobalide）下再生的神經細胞會變得如此的不成熟。

在電生理檢測部分，實驗組的結果相對於對照組均無法達到統計上的顯著差異。這可能是因為在恢復的八週期間，各組動物術側的腓腸肌呈獻嚴重萎縮的現象，或是因發生神經誤長之情況，例如感覺神經束接到運動神經束<sup>[104]</sup>，而這項說法也得到 Clemente 等的研究支持。在 Clemente 等的實驗中發現，當矽膠管內的再生神經進行接合時，來自兩端的感覺與運動神經是會發生誤接的情形，進而造成再生神經功能傳導的紊亂。所以在電生理檢測下，無法提供再生神經傳導或功能恢復的正確結果<sup>[105]</sup>。

另一方面，中藥川芎內含許多純化物，其中包括了有阿魏酸 (ferulic acid)、川芎內酯(senkyunolide)、藁本內酯 (ligustilide)、川芎嗪 (tetramethylpyrazine)等，而其中藁本內酯具有抗細胞增生的效果<sup>【106,107】</sup>。而川芎嗪則具有血管擴張、抗血小板凝集，甚至還可以降低缺血性的腦損傷及避免興奮性神經毒性 (excitotoxicity) 的產生<sup>【106】</sup>。根據 Shih 與 Yun-Lian Lin 等人的研究結果，川芎嗪被認為是中藥川芎中，提供神經保護作用的一個有效成分<sup>【106,108,109】</sup>。由於實驗進行時，我們是以川芎的濃縮萃取液來進行測試，並沒有將其有效成分分離出來進行個別的測試，因此，在這情況之下，有可能因川芎內的純化物互相產生交互作用而降低了再生神經的成熟度與成功率。而這也提供我們未來一個持續探討的方向。



## 第六章

### 結論

中藥結合生醫材料對於神經損傷提供了另一項治療上的選擇。雖然整個研究還在初步階段，但其開發的潛力值得我們重視。在本實驗中，我們利用了中藥地龍與川芎結合矽膠管來探討神經再生之情形，其結論如下：

1. 中藥地龍與川芎均成功的誘發神經細胞之再生，其成功率達 90% 以上，且成功讓再生神經長過 15mm 的截斷間隙。兩種中藥均適合以促進神經生長因子（nerve growth-promoting factor）模式應用在周邊神經的再生，故本研究可提供活血化癥中藥可促進神經再生之證據。
2. 水能載舟，亦能覆舟，從實驗中可以得知高濃度的川芎萃取液反而會抑制神經之再生，推測過高的濃度可能使神經受體 trkA 和 P75NTR 飽和，進而阻斷神經之再生。另外，高濃度的川芎萃取液亦有可能造成細胞間的滲透壓效果，導致細胞內的液體往細胞外擴散，進而導致細胞的萎縮，而造成神經再生之抑制。所以，在治療上必須嚴守採用適當濃度的藥物以避免對損傷的神經造成二次傷害。
3. 中藥川芎萃取液的實驗結果顯示其實驗組與對照組並無統計上的顯著差異，推測是因為其內不同的純化物互相產生交互作用而降低了再生神經的成熟度與成功率，而這一個現象是值得我們在未來持續



探討與研究的方向。

不同的藥物劑型，不同的給藥方式及不同的製藥方法都會影響一個藥物在體內產生的療效。本實驗所採用的製藥方法為生藥材在經過蒸煮後，取其萃取液，再進行濃縮以製成浸膏。雖然幾乎完整保留了藥材中的各主要成分，但也無法避免可能產生各主要成分間的交互作用。因此，雖然本實驗所得到的各種結果是正面的，但也並不代表在其他條件下所進行的試驗可以得到相同的結果。針對這一點，我們認為在未來的研究方向或是產品開發等都還有非常大的探討空間。

中藥低成本高效益的特性對於做為治療神經細胞再生之藥物是非常具有開發的價值與潛力。雖然在本次實驗中，我們證實了地龍與川芎對於神經細胞之再生是有效果，不過其真正的分子機轉尚未能釐清，而這也是我們未來值得進一步努力的方向。除此之外，我們也還需要透過指紋圖譜分析來找出這兩種中藥中的有效成分，以期待可以提高神經再生之成功率及成熟度。



## 參考文獻

1. Mattco Santin. Strategies in Regenerative Medicine, Integrating Biology with Material Design. Springer SciencetBusiness Media. 2009;321.
2. Schlosshauer B, Dreesmann L, Schaller H, Sinis N. Synthetic nerve guide implants in humans : A comprehensive survey. Neurosurgery. 2006;59:747-748.
3. Gregory R.D.Evans. Peripheral Nerve Injury : A Review and Approach to Tissue Engineered Constructs. The Anatomical Record. 2001;263:396-404.
4. 陳悅生：想換條新的神經嗎？神經再生。科學發展 2002;356:26-29.
5. 王錫崗、麥麗敏：簡明解剖生理學 第三版，匯華圖書出版有限公司。1997.
6. 陳悅生：補陽還五湯對神經再生的影響。台灣中醫醫學雜誌 2002;1(2):50-57
7. Sarah Walsh, Rajiv Midha. Practical considerations concerning the use of stem cells for peripheral nerve repair. Neurosurg Focus. 2009;26(2)E2:1-8.
8. Trumble TE, McCallister WV. Repair of peripheral nerve defects in the upper extremity. Hand Clin. 2000;16(1):37-52.
9. Peter J. Evans, Susan E. Mackinnon, Allan D.O. Levi, Judith A. Wade, Daniel A. Hunter, Yasushi Nakao, Rajiv Midha. Cold preserved nerve allografts : changes in basement membrane, viability, immunogenicity, and regeneration. Muscle and Nerve 1998;21(11):1507-1522.
10. 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* 2000 Aug;21(15):1541-1547.

11. Chen MB, Zhang F, Lineaweaver WC. Luminal fillers in nerve conduits for peripheral nerve repair. *Ann Plast Surg* 2006 Oct;57(4):462-471.
12. Boyd, J.G. and T. Gordon. A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. *Eur. J. Neurosci.* 15: 613-626, 2002.
13. Yoshii, S., M. Oka, M. Shima, A. Taniguchi and M. Akagi. 30 mm regeneration of rat sciatic nerve along collagen filaments. *Brain Res.* 2002;949:202-208.
14. Chen YS, Wu CH, Yao CH, Chen CT. Ginsenoside Rb1 enhances peripheral nerve regeneration across wide gaps in silicone rubber chambers. *Int J Artif Organs* 2002 Nov;25(11):1103-1108.
15. Wei, S.Y., P.X. Zhang, N. Han, Y. Dang, H.B. Zhang, D.Y. Zhang, Z.G. Fu and B.G. Jiang. Effects of Hedysari Polysaccharides on regeneration and function recovery following peripheral nerve injury in rats. *Am. J. Chin. Med.* 2009;37:57-67.
16. Lu, M.C., C.H. Yao, S.H. Wang, Y.L. Lai, C.C. Tsai and Y.S. Chen. Effect of *Astragalus membranaceus* in rats on peripheral nerve regeneration : in vitro and in vivo studies. *J. Trauma Injury Infection Crit. Care.* In printing, 2009.
17. Chen, H.T., C.H. Yao, P.D. Lee Chao, Y.C. Hou, H.M. Chiang, C.C. Hsieh, C.J. Ke and Y.S. Chen. Effect of serum metabolites of *Pueraria lobata* in rats on peripheral nerve regeneration: in vitro and in vivo studies. *J. Biomed. Mater. Res.* 2008; 84B:256-262.
18. Chen, Y.S., C.H. Wu, C.H. Yao and C.T. Chen. Ginsenoside Rb1 enhances peripheral

nerve regeneration across long gaps. *Int. J. Artif. Organs.* 2002;25:1103-1108.

19. Chen, Y.S., C.J. Liu, C.Y. Cheng and C.H. Yao. Effect of bilobalide on peripheral nerve regeneration. *Biomaterials.* 2004;25:509-514.
20. Cheng, C.Y., C.H. Yao, B.S. Liu, C.J. Liu, G.W. Chen and Y.S. Chen. The role of astragaloside in regeneration to the peripheral nerve system. *J. Biomed. Mater. Res.* 2006; 76A:463-469.
21. Yueh-Sheng Chen, Wen-Chiang Cheng, Ching-Liang Hsieh, Jaung-Geng Lin, Tung-Yuan Lai, Chun-Hsu Yao, Chin-Chuan Tsai. Effects of Buyang Huanwu decoction on peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers. *Am. J. Chin. Med.* 2001;29(2).
22. Balamurugan, M., K. Parthasarathi, L.S. Ranganathan and E.L. Cooper. Hypothetical mode of action of earthworm extract with hepatoprotective and antioxidant properties. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 2008;9B:141-147
23. Zhang, Z.X. and F.F. Wang. Effects of crude extract of earthworm on promoting blood circulation to removing stasis. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 1992;12: 741-743.
24. Grdisa, M., M. Popovic and T. Hrzenjak. Stimulation of growth factor synthesis in skin wounds using tissue extract (G-90) from the earthworm *Eisenia foetida*. *Cell Biochem. Funct.* 2004;22:373-378.
25. Sheu JR, Kan YC, Hung WC, Lin CH, Yen MH. The antiplatelet activity of tetramethylpyrazine is mediated through activation of NO synthase. *Life Sci.* 2000;67: 937.

26. Hintz KK, Ren J. Tetramethylpyrazine elicits disparate responses in cardiac contraction and intracellular Ca(2+) transients in isolated adult rat ventricular myocytes. *Vascul Pharmacol.* 2003;40:213.
27. Liao SL, Kao TK, Chen WY, Lin YS, Chen SY, Raung SL, Wu CW, Lu HC, Chen CJ. Tetramethylpyrazine reduces ischemic brain injury in rats. *Neurosci Lett.* 2004;372:40.
28. Lin YL, Lee YC, Huang CL, Lai WL, Lin YR, Huang NK. Ligusticum chuanxiong prevents rat pheochromocytoma cells from serum deprivation-induced apoptosis through a protein kinase A-dependent pathway. *J Ethnopharmacol.* 2007;109:428.
29. Zhu TY, Zhao CP, Experimental study of stimulating effect of traditional Chinese drugs on nerves regeneration. *World J Integr Trad West Med.* 2006;1:85.
30. Elaine N. Marieb, Katja Hoehn. *Human Anatomy & Physiology.* 7<sup>th</sup> edition, Pearson International Edition.
31. Gentili F, Hudson AR, Midha R: Peripheral nerve injuries: Types, causes, and grading. In Wilkins RH, Rengachary SS (eds): *Neurosurgery*, New York, McGraw-Hill Company, 1996, pp 3105-3114.
32. Seddon HJ: Three types of nerve injury. *Brain* 1943;66:238-288.
33. Seddon H. *Surgical disorders of the peripheral nerves.* Churchill Livingstone, Edinburgh, 1972.
34. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain.* 1951;74:491-516.



35. Sunderland S. Nerves and nerve injuries, 2nd edn. Churchill Livingstone, Edinburgh. 1978.
36. Liu CT, Benda CE, Lewey FH: Tensile strength of human nerves: Experimental physiological and histological study. Archives of Neurology and Psychiatry. 1948;59:322-336.
37. Sunderland S, Bradley KC: Stress-strain phenomena in human peripheral nerves. Brain. 1961;84:102-119.
38. Lundborg G: Compression and stretching. In Nerve Injury and Repair, New York, Churchill Livingstone, 1988, pp 64-101.
39. 陳滢如：以靜電紡絲製備幾丁聚醣纖維膜內填矽膠管對大鼠坐骨神經再生影響之評估。中國醫藥大學碩士論文，台中，2008。
40. Seddon HJ. Peripheral nerve injuries. Medical Research Council Special Report Series 282. Her Majesty's Stationery Office, London, 1954.
41. Morris, J. H. An electron microscope study of degeneration and regeneration in mammalian peripheral nerves. University of Oxford, thesis. 1971, pp i-173.
42. Morris JH, Hudson AR, Weddell G: A study of degeneration and regeneration in the divided rat sciatic nerve based on electron microscopy. III. Changes in the axons of the proximal stump. Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 1972;124:131-164.
43. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. Brain. 1951;74:491-516.

44. Sunderland S. Nerves and nerve injuries, 2nd edn. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1978.
45. Lundborg G. Nerve Injury and Repair. Churchill Livingstone Inc., 1988; pp. 1-277.
46. 王斯弘：黃耆對周邊神經組織再生的影響。中國醫藥大學碩士論文，台中，2007。
47. Kerschensteiner M, Schwab ME, Lichtman JW, Misgeld T. In vivo imaging of axonal degeneration and regeneration in the injured spinal cord. *Nat. Med.* 11(2005):572-77.
48. Vargas, M.E., Barres, B. A. Why is Wallerian Degeneration in the CNS so slow. *Annual Review of Neuroscience*, 2007;30:153-79.
49. Zimmerman UP, Schlaepfer WW. Multiple forms of Ca-activated protease from rat brain and muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 1984;259:3210-8.
50. Guertin AD, Zhang DP, Mak KS, Alberta JA, Kim HA. Microanatomy of axon/glia signaling during Wallerian degeneration. *Journal of Neuroscience*, 2005;25:3478-87.
51. Dailey AT, Avellino AM, Bentham L, Silver J, Kliot M. Complement depletion reduces macrophage infiltration and activation during Wallerian degeneration and axonal regeneration. *J. Neurosci.* 1998;18:6713-22.
52. Lundy-Ekman, Laurie. *Neuroscience: Fundamentals for Rehabilitation*; 3rd ed. Saunders, 2007. ISBN: 978-1-4160-2578-8
53. Heumann R, Korsching S, Bandtlow C, Thoenen H. Changes of nerve growth factor synthesis in nonneuronal cells in response to sciatic nerve transection. *J. Cell Biol.* 1987;104:1623-31.

54. Lindholm D, Heumann R, Hengerer B, Thoenen H. Interleukin 1 increases stability and transcription of mRNA encoding nerve growth factor in cultured rat fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 1988;263:16348–51.
55. Wilgis EFS: Techniques of epineural and group fascicular repair, in Gelberman RH (ed): *Operative nerve repair and reconstruction*. Philadelphia, J.B. Lippincott Company. 1991; pp. 287-293.
56. Orgel MG: Epineurial versus peripheral repair of peripheral nerves. *Clinics in Plastic Surgery*. 1984;11:101-104.
57. Wilgis EF, Maxwell GP. Distal digital nerve grafts: clinical and anatomical studies. *Journal of Hand Surgery - American Volume*. 1979;4(5):439-43.
58. Terris DJ, Fee WE, Jr. Current issues in nerve repair. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1993;119(7):725-731.
59. Millesi H. Interfascicular nerve grafting. *Orthop Clin North Am*. 1981;12(2):287-301.
60. Wilgis EFS: Techniques of epineural and group fascicular repair, in Gelberman RH (ed): *Operative nerve repair and reconstruction*. Philadelphia, J.B. Lippincott Company. 1991;pp 287-293.
61. Cabaud HE, Rodkey WG, McCarroll HR. Peripheral nerve injuries: studies in higher nonhuman primates. *J Hand Surg Amer*. 1980;5(3):201-6.
62. Narakas A. The use of fibrin glue in repair of peripheral nerves. *Orthop Clin North Am*. 1988;19(1):187-99.

63. Nishihira S, McCaffrey TV. Repair of motor nerve defects: comparison of suture and fibrin adhesive techniques. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1989;100(1):17-21.
64. Maragh H, Hawn RS, Gould JD, Terzis JK. Is laser nerve repair comparable to microsuture coaptation? *J Reconstr Microsurg.* 1988;4(3):189-95.
65. Bailes JE, Cozzens I, Hudson JW, Kline AR, Ciric DG, Gianaris P, Bernstein LP, Hunter D. Laser-assisted nerve repair in primates. *J Neurosurg.* 1989;71(2):266-72.
66. Kuderna H. Die fibrinklebung peripherer Nerven. In: Nigst H(ed) *Nervenwiederherstellung nach traumatischen Läsionen. Bibliothek für Handchirurgie.* Hippokrates Verlag, Stuttgart 1985;78-94.
67. Millesi H. Nerve grafts: indications, techniques and prognosis. In: Omer G. Spinner M(ed) *Management of peripheral nerve problems.* Saunders W. B. Philadelphia. 1980; 410-430.
68. 趙立國、姚康得：神經導管修復周邊神經損傷的研究進展。生物醫學工程與臨床。2003; 7(2):112-4.
69. Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen N, Nachemson AK. Tissue specificity in nerve regeneration. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg.* 1986;20(3):279-83.
70. Doolabh VB, Hertl MC, Mackinnon SE. The role of conduits in nerve repair : a review. *Rev Neurosci.* 1996;7(1):47-84.
71. Kiyotani T, Teramachi M, Takimoto Y, Nakamura T, Shimizu Y, Endo K. Nerve regeneration across a 25-mm gap bridged by a polyglycolic acid-collagen tube: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. *Brain Res.*



1996;740(1-2);66-74.

72. Seckel BR. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve*. 1990;13: 785.
73. Grace J , Daniel S, Stevens T, Shankar KK, Walker Z, Byrne EJ, ButlerS, Wilkinson D, Woolford J, Waite J, McKeith IG. Long-Term use of rivastigmine in patients with ementia with Lewy bodies : an open-label trial. *Int Psychogeriatr*. 2001;13 (2) : 199-205.
74. Lundborg G, Kanje M. Bioartificialnerve grafts:Aprototype. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1996;30(2): 105-10.
75. 鄭文強：中醫方劑對經矽膠管修護之截斷大鼠坐骨神經再生影響之評估。中國醫藥學院。2000。
76. 蔡蕙君：滋陰及補氣之中醫方劑對經矽膠管修護之截斷大鼠坐骨神經再生影響之評估。中國醫藥學院，台中，2003。
77. 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之評估。中國醫藥學院。2000。
78. 邱志文：雷射刺激穴位對截斷大鼠坐骨神經之再生作用。中國醫藥大學。2004。
79. Le Beau JM, Ellisman MH, Powell HC. Ultrastructural and morphometric analysis of long-term peripheral nerve regeneration through silicone tubes. *J Neurocytol*. 1988 Apr;17(2):161-172.
80. 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 Res.* 1984 Aug 20;309(1):105-117.

81. 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. *J Comp Neurol* 1983 Aug 20;218(4):460-470.
82. Fields RD, Le Beau JM, Longo FM, Ellisman MH. Nerve regeneration through artificial tubular implants. *Prog Neurobiol.* 1989;33(2):87-134.
83. Rodriguez FJ, Gomez N, Perego G, Navarro X. Highly permeable polylactide-caprolactone nerve guides enhance peripheral nerve regeneration through long gaps. *Biomaterials* 1999 Aug;20(16):1489-1500.
84. Jenq CB, Coggeshall RE. The effects of an autologous transplant on patterns of regeneration in rat sciatic nerve. *Brain Res.* 1986 Jan 29;364(1):45-56.
85. 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 Res.* 1988 Mar 1;467(1):39-50.
86. Morris JH, Hudson AR, Weddell G. A study of degeneration and regeneration in the divided rat sciatic nerve based on electron microscopy. II. The development of the "regenerating unit". *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1972;124(1):103-130.
87. Fields RD, Ellisman MH. Axons regenerated through silicone tube splices. I. Conduction properties. *Exp Neurol.* 1986 Apr;92(1):48-60.
88. 黃春林、朱曉新，中藥藥理與臨床手冊，人民衛生出版社，2006，pp 146~147.

89. 顏正華，中藥學(下)，知音出版社，1991，pp 535.
90. 馬靜、馬玲，中藥川芎中有效成分及藥理作用研究進展，中國民族民間醫藥雜誌，2009年19期，pp 9~10.
91. 甄志亞，中國醫學史，知音出版社，2003，pp 30~31. (原 88)
92. 孟景春，周仲瑛，中醫學概論，知音出版社，1991，pp 28
93. 馬豔春，宋立群，肖洪彬，張瑞，鄧祥敏，地龍藥理作用研究進展概況，中國臨床保健雜誌 2009年8月第12卷第4期，pp436
94. Sheu JR, Kan YC, Hung WC, Lin CH, Yen MH, The antiplatelet activity of tetramethylpyrazine is mediated through activation of NO synthase, *Life Sci* **67**: 937, 2000.
95. Liao SL, Kao TK, Chen WY, Lin YS, Chen SY, Raung SL, Wu CW, Lu HC, Chen CJ, Tetramethylpyrazine reduces ischemic brain injury in rats, *Neurosci Lett* **372**: 40, 2004
96. Shih YH, Wu SL, Chiou WF, Ku HH, Ko TL, Fu YS, Protective effects of tetramethylpyrazine on kainate-induced excitotoxicity in hippocampal culture, *Neuroreport* **13**: 515, 2002.
97. Chang YM, Shih YT, Chen YS, Liu CL, Fang WK, Tsai CH, Tsai FJ, Kuo WW, Lai TY, Huang CY, Schwann Cell Migration Induced by Earthworm Extract via Activation of PAs and MMP2/9 Mediated through ERK1/2 and p38, *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009 Oct 6
98. Chang YM, Kuo WH, Lai TY, Shih YT, Tsai FJ, Tsai CH, Shu WT, Chen YY, Chen

YS, Kuo WW, Huang CY, RSC96 Schwann Cell Proliferation and Survival Induced by Dilong through PI3K/Akt Signaling Mediated by IGF-I, Evid Based Complement Alternat Med, 2009 Dec 29

99. 章如瑛：以綠梔子素交聯明膠製造降解性神經導管之研究評估，中國醫藥大學碩士論文,2004
100. Gallo G, Lefcort FB, Letourneau PC, The trkA receptor mediates growth cone turning toward a localized source of nerve growth factor, *J Neurosci.* 1997;17:5445.
101. Boyd JG, Gordon T, A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor, *Eur J Neurosci.* 2002;15:613.
102. Mohiuddin L, Delcroix JD, Fernyhough P, Tomlinson DR, Focally administered nerve growth factor suppresses molecular regenerative responses of axotomized peripheral afferents in rats, *Neuroscience.* 1999;91:265
103. Hirata A, Masaki T, Motoyoshi K, Kamakura K, Intrathecal administration of nerve growth factor delays GAP 43 expression and early phase regeneration of adult rat peripheral nerve, *Brain Res.* 2002; 944:146.
104. Hou Z,Zhu J.An experimental study about the incorrect electrophysiological evaluation following peripheral nerve injury and repair. *Electromyogr Clin Neurophysiol.* 1998;38:301-304.
105. Clemente FR , Barron KW. The influence of muscle contraction on the degree of microvascular perfusion in rat skeletal muscle following transcutaneous neuromuscular electrical stimulation. *J Orthop Sports Phys Ther.* 1993;18:488-96.
106. Yun-Lian Lina, Guei-JaneWanga, Chuen-Lin Huangb, Yi-Chao Leec, Wei-Chen

Liaod, Wen-Lin Lai a, Yen-Ju Lina, Nai-Kuei Huang, Ligusticum chuanxiong as a potential neuroprotectant for preventing serum deprivation-induced apoptosis in rat pheochromocytoma cells: Functional roles of mitogen-activated protein kinases, *Journal of Ethnopharmacology*. 2009;122:pp 417-423.

107. Zheng YZ, Choi RC, Li J, Xie HQ, Cheung AW, Duan R, Guo AJ, Zhu JT, Chen VP, Bi CW, Zhu Y, Lau DD, Dong TT, Lau BW, Tsim KW, Ligustilide Suppresses the Biological Properties of Danggui Buxue Tang: A Chinese Herbal Decoction Composed of Radix Astragali and Radix Angelica sinensis, *Planta Med*. 2009 Oct 21.

108. Shih, Y.H., Wu, S.L., Chiou, W.F., Ku, H.H., Ko, T.L., Fu, Y.S., Protective effects of tetramethylpyrazine on kainate-induced excitotoxicity in hippocampal culture, *Neuroreport*. 2002;13:515-519.

109. 祁存芳，劉勇，田玉梅，張建水，陳新林，大鼠腦缺血損傷後星形膠質細胞活化及川芎嗪的影響，*第四軍醫大學學報*，2009,30 (9).



# **Effects of Ligusticum chuanxiong and Earthworm on injured peripheral nerves in rats**

Chao-Tsung Chen

Major Professor: Jaung-Geng Lin

School of Chinese Medicine, China Medical University

Peripheral nerve injuries represent a problem of considerable clinical importance. The most significant peripheral nerve injuries are those that result in a gap in nerve continuity. Although enormous progress has been made in surgical techniques in the past, functional recovery after a severe lesion is often incomplete and sometimes unsatisfactory. When the nerve tissue defect is extensive, nerve graft or nerve bridge may be considered. A nerve bridge which connects both ends of injured nerve stumps can offer the advantages of minimizing invasion and scarring of the nerve, aiding guidance of growing fibers along appropriate paths.

The earthworm and the Ligusticum chuanxiong, which have the stasis removal and blood circulation promoting functions, have widely been used as Chinese herbal medicine since ancient China. In the literature, their neuroprotection ability had been proved, but their ability in promoting the growth of nerve remains unclear. Therefore, we used both the drugs as a nerve regeneration stimulator substance to find out their effects on nerve regeneration.

Firstly, the present study provided in vivo trials of silicone rubber chambers filled with different concentrations of Ligusticum chuanxiong (LC) and earthworm (EW) extracts to bridge a 10 mm sciatic nerve defect in rats. Histological and electrophysiological techniques were used to evaluate the functional recovery of the nerve. At the conclusion of 8 weeks, regenerated nerves from all of the groups treated with the LC and the EW had similar microstructures compared to the controls. However, the high dose LC group at 125 mg/ml and the EW group at 500  $\mu$ g/ml could inhibit the nerve regeneration with a significantly fewer myelinated axons. These results indicated that LC and EW could be involved in both positive and negative effects on regenerating nerves. Therefore, whether a proper dosage of LC or EW are used or not plays a critical factor in deciding if it can sustain nerve regeneration over long gaps.

**Keywords:** Earthworm; Ligusticum chuanxiong; Silicone rubber; Peripheral nerve regeneration

## 謝 詞

回顧碩、博士研究生活，短暫九年仿若一瞬，在這段路程中有許多需要感謝的人。

本篇論文的完成，首先要感謝兩位指導教授的指導與鼓勵。恩師林董事昭庚引領學生進入學術殿堂，其對於學生的為人處世、治學態度，也使我在醫術醫德上獲益良多。陳主任悅生的耐心指正與學術研究上的教導，並不辭辛勞的審查與提出寶貴意見，讓我開拓了更廣闊的視野，師恩浩蕩，感激之情溢於言表，僅此致上我由衷的敬意與謝意。

感謝高尚德院長、蘇奕彰主任、陳光偉所長對學生的多方照顧與協助，帶職進修期間，對學生真誠相待與勉勵，對學生的課業與生活照顧有加。

感謝台大呂教授東武、義守大學蔡主任金川、本校姚主任俊旭、賴教授東淵在研究過程與生活給予指導和照顧，使學生能發覺缺點並改進，在此深感銘謝。

感謝中國醫藥大學這九年來對我的教導與期勉，以及系所辦人員給予我行政上最大的協助，僅在此致上最高的謝意。

最後，僅以本論文獻給我最親愛的家人，內人許淑惠及一對可愛的子女，與關心我的親朋好友們。

未來我將以中國醫藥大學中醫學院的一份子為榮，祝願上述所有人均能健康幸福，平安喜樂。