

中國醫藥大學針灸研究所碩士論文

編號：GIAS-97-9604

指導教授：馮逸卿 副教授

共同指導教授：李德茂 副教授

論文題目

電針改善卵巢切除大鼠骨質疏鬆效應之探討

Study the effects of electroacupuncture on osteoporosis
in ovariectomized SD rats

研究生：吳啟銘

中華民國九十八年六月八日

中國醫藥大學碩士班研究生
論文指導教授推薦書

針灸研究所，吳啟銘君所提之論文

電針改善卵巢切除大鼠骨質疏鬆效應之探討

(題目)，係由本人指導撰述，同意提付審查。

指導教授 李逸卿 (簽章)

中華民國 98 年 6 月 8 日

中國醫藥大學碩士班研究生
論文口試委員審定書

針灸研究所，吳啟銘君所提之論文電針改善卵巢切除大鼠骨質疏鬆效應之探討(題目)，經本委員會審議，認為符合碩士資格標準。

論文口試委員會

委員

李逸卿
李浩
楊順榮

(簽章)

所長

謝慶良

中華民國

98年

6月

8日

目錄

目錄	iv
圖目錄	vi
表目錄	vii
中文摘要	viii
第一章 前言	1
第一節 研究背景	1
第二節 研究假設	3
第三節 研究限制	4
第二章 文獻探討	5
第一節 骨質疏鬆症現代醫學認識	5
第二節 骨質疏鬆症傳統醫學認識	12
第三節 骨質疏鬆症與中藥研究	17
第四節 骨質疏鬆症與針灸研究	20
第五節 骨質疏鬆症相關動物模型及評估	21
第三章 材料與方法	25
第一節 實驗流程	25
第二節 動物模型之建立	27
第三節 動物氣體麻醉操作流程	29
第四節 大鼠足三里及三陰交定穴與電針實驗模型	30
第五節 血清ALP之ELISA測定	33
第六節 骨切片包埋及染色法	34

第七節	統計分析	36
第四章	結果	37
第一節	雙側卵巢切除與電針足三里及三陰交對大鼠體重影響	37
第二節	雙側卵巢切除與電針足三里及三陰交對大鼠成骨作用影響	39
第三節	雙側卵巢切除與電針足三里及三陰交對大鼠骨顯微構造影響	41
第四節	雙側卵巢切除與電針足三里及三陰交對大鼠脛骨重量及長度及力學特性影響	43
第五章	討論	46
第六章	結論	49
參考文獻		50
英文摘要		55
謝辭		57



圖目錄

圖 3.1.1 探討電針刺激對卵巢切除大鼠骨質疏鬆改善效應及機轉實驗流程圖	
(CON：控制組，OVX：卵巢切除組，OVX+EA：電針組)	26
圖 3.4.1 IVIS 200 系統	31
圖 3.4.2 實驗情形	32
圖 4.1.1 大鼠體重變化圖	38
圖 4.2.1 大鼠血清 ALP 活性圖	40
圖 4.3.1 大鼠脛骨 BMD 及 BMC 比較圖	42
圖 4.4.1 各組大鼠近端脛骨骨幹骺端切片(H/E stain)	44
圖 4.4.2 大鼠脛骨長度及重量比較圖	45

表目錄

表 4.1.1 大鼠體重變化表	37
表 4.2.1 大鼠血清 ALP 活性變化表	39
表 4.3.1 大鼠脛骨 BMD 及 BMC 比較表	41
表 4.4.1 大鼠脛骨長度及重量比較表	43



中文摘要

人體之骨骼中大約有 10% 左右的骨骼持續的進行重新塑造 (bone remodeling) 的變化。Bone remodeling 有二種不同的作用，其中包括骨骼之溶蝕作用 (bone resorption)，及隨之而來之骨骼生成作用 (bone formation)。Bone remodeling 之所以能順利進行，有賴於骨骼中二種不同之細胞通力合作才行。這二種細胞為負責骨骼溶蝕作用之破骨細胞 (osteoclast) 及負責成骨作用之『造骨細胞』 (osteoblast)。根據過去的文獻探討，機械性效應或是電刺激可以影響成骨作用，提示我們可以在臨床上用來預防骨質減少。

考慮到藥品價位及副作用，電針可能是一種高效益用來治療骨質疏鬆的方式。本研究即探討以電針刺激大鼠足三里及三陰交穴位，是否可以用來治療骨質疏鬆症。本研究將 18 隻 6 週齡雌性大鼠隨機分配為三組，分別為控制組 (CON, n=6)，卵巢切除組 (OVX, n=6) 及電針組 (OVX+EA, n=6)。探討電針是否可以預防卵巢切除大鼠骨質流失的情形，將正極接在足三里，負極接在三陰交穴，採取 isoflurane 氣體麻醉方式，使用 2Hz 電刺激器 (Trio 300, Ito Co., Japan)，強度 1-2mA，治療 1 個月。結果發現電針組大鼠血清中 ALP 含量明顯較卵巢切除組及控制組高，H/E 染色發現電針組有預防卵巢切除造成骨質減少的作用，而電針組體重增加情形也較卵巢切除組來的少，總而言之，本實驗結果提示我們電針可以用來預防卵巢切除大鼠骨質減少情形，或許未來可以應用於停經後婦女預防或治療骨質疏鬆的方式。

關鍵字：電針、骨質疏鬆、鹼性磷酸鹽、成骨作用

第一章 前言

第一節 研究背景

骨質疏鬆症是以全身性骨量減少、骨組織顯微結構退化為特徵，骨的脆性增高而骨折的危險性增加的一種全身性骨病[1]，並且已經成為發展中國家的一個重要的公共衛生議題[2]。以美國為例，至 96 年底罹患骨質疏鬆的患者達 1500 萬人次以上，而因骨質疏鬆所造成病理性骨折有 120 萬人次以上，治療費用高達 70~100 億美金[3]。而台灣地區 65 歲以上人口中，每 9 人即有 1 人罹患骨質疏鬆症，其中女性停經後約 25% 會發生骨質疏鬆症[4]。也因此骨質疏鬆的預防或治療研究更顯的重要。

目前有許多治療性的藥物，包含抑制破骨作用或是增加成骨作用的藥物用來治療或是避免骨質疏鬆，且可以增加骨密度或是減少骨折的風險，大致上來說，目前可用來治療骨質疏鬆的藥物，大概可以減少骨質疏鬆所造成的骨折風險約 50-65%。但是目前因為藥物價位較高以及腸胃道副作用（例如噁心、嘔吐、腹痛）及少數病例顯示會有代謝性或是血管堵塞風險提高仍限制了這類藥物的治療。

機械性刺激方式用來促進骨質增生已經被美國食品暨藥物管理局（Food and Drug Administration, FDA）所證實有效且使用了三十年了[5]，而電刺激也可以用來治療先天性假關節以及骨質癒合，無論是試

管或是動物實驗也都證實物理性刺激和成骨作用或破骨作用有關，這也暗示這些機械性刺激方式可以在臨床上用來避免或是治療骨質減少。

目前已有報告指出針刺或電針卵巢切除大鼠穴位可以增加骨密度，某些研究發覺針灸的療效或許是透過提高血清中雌性激素所造成的效應[6]。而傳統中醫理論中，骨質疏鬆症和先天之本的「腎」或是後天之本的「脾胃」均有密切關係，而某些學者也認為「肝」的藏血與泄機能正常也是需要考量的一點。總而言之，依照中醫基本生理病理學理論，骨質疏鬆症和腎精之盈虛、脾胃運化、肝血化生腎精都有密切的關係[7]。

考量藥物治療骨質疏鬆需要高成本以及可能產生的藥物副作用，因此本實驗將探討利用電針刺激卵巢切除大鼠的相關穴位是否可以改善骨質流失情形。

而本研究成果，可以有效應用動物模型方式，來了解婦女停經後造成骨質減少的情況及受到電針刺激後的反應，並瞭解造骨細胞的成骨作用機轉是否透過電針刺激而增加；希望進一步瞭解電針預防或治療骨質疏鬆之機轉，以開發合適電針模式搭配藥物來預防停經後骨質疏鬆情形。

第二節 研究假設

人體之骨骼終身不停的進行重新塑造(bone remodeling)的變化，而 Bone remodeling 有二種不同的作用，其中包括蝕骨作用(bone resorption), 及隨之而來之成骨作用(bone formation)。Bone remodeling 之所以能順利進行，有賴於骨骼中二種不同之細胞通力合作才行。這二種細胞為負責蝕骨作用之「破骨細胞」(osteoclast)及負責成骨作用之「造骨細胞」(osteoblast)。

為了探討婦女停經後骨質疏鬆的病理變化及治療方式，因此本實驗採用卵巢切除大鼠模型，模擬婦女因停經後雌性激素的減少所產生骨質減少的情形，進而探討利用電針刺激相關穴位是否可以預防或治療骨質疏鬆的可行性及其機轉。

第三節 研究限制

本研究限制主要為使用大鼠卵巢切除模型模擬婦女停經後情形，實驗動物均飼養在一個高度控制的環境中，除了環境外，並餵食相同飼料，但是人類因為種族、年齡及生活方式的不同，並無法確定是否電針可以造成相同的結果，而實驗動物只能呈現相關血清、顯微組織的變化，並無法模擬停經後婦女骨折風險增加的情況。



第二章 文獻探討

第一節 骨質疏鬆症現代醫學認識

1993 年國際共識定義(International consensus definition)骨質疏鬆症為「一種全身性骨骼疾病，其特徵為低骨量(low bone mass)及骨組織微結構變差(microarchitectural deterioration)，造成骨的脆性增加，而骨折機率也隨著增加[8]。而美國國家衛生研究院(National Institutes of Health, NIH)對骨質疏鬆的定義，強調骨質疏鬆症是「一種因骨骼強度(bone strength)減弱致使個人增加骨折危險性的疾病」[1]，這也是目前的國際標準。

(1)盛行率

中華民國老年醫學會曾經調查台灣地區的骨質疏鬆症盛行率，結果發現台灣地區 65 歲以上人口，每九人即有一位罹患骨質疏鬆症。和歐美地區相比較低，但是如果根據 1993 年台灣地區 65 歲以上 3,000 多位老人所做的調查顯示，65 歲以上婦女的脊椎壓迫性骨折盛行率為 19.8%，在男性則為 12.5%，與歐美相近，可知台灣地區骨質疏鬆症患者被明顯低估，可能和骨質疏鬆症發生之初並無明顯症狀及診斷工具尚未普及造成的。

此外，1996 至 2000 年間臺灣地區之健保資料分析顯示，65 歲以上婦女的髖骨骨折平均年發生率為每十萬人口 505 例，在男性則為 225 例 [9]，與歐美及其他亞洲國家之髖骨骨折發生率相近。而以定量式超音波檢查儀檢查(quantitative ultrasonography；簡稱 QUS)之 T 值低於 -2 的骨質疏鬆性骨折高危險族群男性有 67%，女性有 73%；T 值介於 -1 與 -2 間之中度骨折危險族群男性有 27%，女性有 20% [10]。而以定量式超音波檢查儀檢查之報告顯示 80 歲以上男性 38% 有骨質疏鬆症，女性有 68%。並且依健保紀錄，發生髖部骨折的老人，一年內之死亡率約為 15% [11]。由上統計資料可知，骨質疏鬆症正侵蝕著台灣銀髮族的健康。

(2) 臨床症狀

骨質疏鬆症在早期不會引起任何症狀，通常都是骨折發生時，才發現有骨質疏鬆的情況，因此骨質疏鬆症的症狀大都與發生骨折有關，例如疼痛、腰酸背痛、行動力受限、駝背、身高變矮、脊椎或關節變形，都是骨質疏鬆常見的相關症狀，最後引發骨折（好發於髖骨、脊椎骨及腕骨），則是比較嚴重的併發症。

(3)發病原因

骨質疏鬆症目前發病原因未明，可能跟下列一項或數項有關：

-內分泌功能失常

※性激素缺乏：雌激素和(或)雄激素缺乏與比例失調，導致：①蛋白質合成減少，骨基質生成不足；②成骨細胞功能下降；③PTH 對骨作用的敏感性增加；④糖皮質激素對骨作用強度相對增高；⑤腸鈣吸收和腎小管鈣重吸收降低，絕經期、老年性和卵巢早衰等引起的骨質疏鬆都可能與此有關，雌激素缺乏可能是絕經期骨質疏鬆的主要原因[12, 13]。

※調節鈣相關激素失常：副甲狀腺素輕度增加或是 Vit.D 缺乏均可能造成病理性骨質疏鬆[14]。抑鈣素(Calcitonin)抑制骨質再吸收，因此抑鈣素的缺乏亦會導致骨質疏鬆。

※其他激素的作用：原發性骨質疏鬆患者存在甲狀腺激素、糖皮質激素、生長激素、胃泌素的分泌異常，但其病因意義並未闡明。

-營養障礙

由於各種原因，如老年人、青春發育期及妊娠哺乳期可發生營養障礙。蛋白質供給不足可能引起骨生成障礙，但攝入過多的蛋白質亦使尿鈣排出增加，導致鈣負平衡。鈣的攝入不足與骨質疏鬆的關係密切，低

鈣飲食可能通過繼發性 PTH 分泌增多導致骨吸收加速。飲酒使糖皮質激素分泌增多，尿鈣增加，腸鈣吸收減少；長期飲酒者性腺功能減退，如併發肝硬化還將影響 25-(OH)D₃ 的生成；故酒精中毒性骨質疏鬆的病因是多方面的綜合作用的後果。老年人的活動減少、日照缺乏、胃腸吸收功能和腎小管重吸收能力逐年減退等因素，均可能與骨質疏鬆的形成有一定關係。

-遺傳因素

身材、肥瘦、肌肉發達程度和胃腸功能均與遺傳有關。白種人（亞洲人亦近似白種人）易發生骨質疏鬆，而南非班圖人、黑人不易發生骨質疏鬆，瘦長身材者骨質疏鬆發生率比矮胖者高得多。

-免疫因素

破骨細胞來源於大單核細胞，有潛在免疫功能。免疫功能紊亂時通過各種途徑加速骨吸收，延緩骨生長，導致骨質疏鬆。

-骨骼重量與骨容積(BMC)的最高值

人一生中骨容積在 30 歲達到 BMC 最高值，資料表示，BMC 最高值較高者在進入停經期或老年期後不易發生骨質疏鬆，這在女性更為突出。

(4) 臨床治療

※雌激素：雌激素之應用於防止停經後婦女的骨質流失 被列為首選藥物。如果沒有任何禁忌情況時（如子宮內膜癌、乳癌、血栓症等），所有婦女在有骨質疏鬆危險 時應考慮給予雌激素。

※選擇性雌激素接受器調節物（Selective Estrogen Receptor Modulator, SERM）：SERM（例如 Raloxifene, Evista）為新一代之類雌激素藥物，但與雌激素不同者是其主要作用在骨骼內之雌激素接受器上，故可減少骨質流失，增加骨質密度，並可有效降低骨折之發生率，而無乳房及子宮的副作用。目前建議使用於更年期後期婦女或對雌激素使用有禁忌之患者[15, 16]。

※抑鈣素：抑鈣素因對骨溶解作用產生抑制作用，故對骨質疏鬆症之預防及治療相當有效，亦有證據顯示可減少骨折之發生。可使用注射（皮下或肌肉）或鼻噴霧劑之方式給藥。臨床上亦應同時補充鈣以避免副甲狀腺素之升高[17]。

※雙磷酸鹽類（Bisphosphonate）：如 Alendronate（Fosamax）、Risedronate（Actonel）在臨床上已被證實能抑制停經後婦女及使用類固醇引起之骨質疏鬆症之骨骼流失及減少骨折比率 [18-20]。

※活性維生素D及其類似物：老人由於飲食減少，少曬太陽，故活性維生素D較易缺乏，較易發生骨折。應每日補充400至800單

位的維生素D或0.25至0.75 μg 之1.25-雙氫氧化維生素D3或其類似物。但應定期追蹤血鈣以防高血鈣症之發生[21]。

※其他藥物：包括 Ipriflavone、Strontium、PTH、維生素K2及Echistatin…等。其中低劑量之副甲狀腺激素（Parathyroid Hormone, PTH）因有效的促進造骨細胞活性，增加骨質，可顯著增加腰椎及大腿股骨部位之骨質密度，並可有效的減低骨折之發生率。但其副作用有噁心及頭痛，另外價格昂貴及其使用方式為每日皮下注射，較不方便。

(5) 常見危險因子

※更年期婦女

※有骨質疏鬆家族史

※咖啡及喝酒

※吸菸

※某些藥物如類固醇、甲狀腺替代物、肝素（heparin）

※某些疾病如甲狀腺、副甲狀腺疾病、類風濕關節炎及可干擾小腸

對鈣吸收的狀況

※低鈣的攝取量

※缺少運動。

(6) 預防之道

原發性骨質疏鬆症尚無安全有效的方法，使已經嚴重骨質疏鬆的骨骼完全恢復正常。所以原發性的骨質疏鬆症預防應該從青春期的開始。老年前期的婦女可給予激素替代療法，降低骨轉換，改善骨強度，預防骨丟失，但不能修復已丟失的骨質。

骨質疏鬆的預防含有兩種意義：首先是高危險群的預防，主要是絕經後婦女；其次是普通人群。對有危險因素的絕經後婦女，如無其他禁忌證，應早期使用雌激素預防骨質疏鬆。由於 BMC 骨最大量的不足是成年後骨密度降低和骨質疏鬆的重要發病因素，故應在青少年甚至嬰幼兒期就開始注意飲食的均衡，特別是鈣的攝入，必要時口服鈣劑。青少年期鼓勵多運動，面對老年人特別是已有骨量減少或骨質疏鬆的患者。應注意運動項目的選擇和運動量。由於老年人的應急和反應能力降低。故要儘量注意老年人的日常保護，如飯後起立、夜間起床等，以減少跌倒的危險，降低與骨質疏鬆相關的骨折的發生率。

第二節 骨質疏鬆症傳統醫學認識

傳統中醫文獻記載

中醫文獻中並無「骨質疏鬆症」這個名詞，但根據骨質疏鬆症的臨床症狀常見腰背疼痛、駝背以及骨折，與中醫名詞中「骨痿」、「骨枯」、「骨痹」、「骨蝕」、「腰痛」、「虛勞」較為相近[7]。

- (1) 《素問·痿論篇第四十四》曰：“腎者，水臟也，今水不勝火，則骨枯而髓虛，故足不任身，發為骨痿”。
- (2) 《素問·脈要精微論》曰：“腰者，腎之府，轉搖不能，腎將憊矣”
骨者，髓之府，不能久立，行則振掉，骨將憊矣”。
- (3) 《素問·長刺節論》曰：“病在骨，骨重不可舉，骨髓酸痛”。
- (4) 《醫經精義》曰：“腎藏精，精生髓，髓生骨，故骨者腎之所合也，髓者，腎精所生，精足則髓足，髓在骨內，髓足則骨強”。
- (5) 《醫宗必讀·痿》：“陽明虛則血氣少，不能潤養宗筋，故弛縱，宗筋縱則帶脈不能收引，故足痿不用。”

骨質疏鬆症中醫病理生理學角度

綜合來說，骨質疏鬆症依中醫角度來看，可歸納與「腎」、「脾胃」及「肝」三個臟腑密切性最高。

(1) 腎與骨質疏鬆：依據《內經素問篇·上古天真論》記載：「女子七歲，腎氣盛，齒更髮長；二七天葵至，任脈通，太衝脈盛，月事以時下，故有子；三七腎氣平均，故真牙生而長極；四七筋骨堅，髮長極，身體盛壯；五七陽明脈衰，面始焦，髮始墜；六七三陽脈衰於上，面皆焦，髮始白；七七任脈衰，太衝脈衰少，天葵竭，地道不通，故形壞而無子也。丈夫八歲，腎氣實，髮長齒更；二八腎氣盛，天葵至，精氣溢瀉，陰陽和，故能有子；三八腎氣平均，筋骨勁強，故真牙生而長極；四八筋骨隆盛，肌肉滿壯；五八腎氣衰，髮墜齒槁；六八陽氣衰竭於上，面焦，髮鬚頹白；七八肝氣衰，筋不能動，天葵竭，精少，腎氣衰，形體階極；八八則齒髮去。」，這是中醫有關人體老化過程的描述，也是中醫治療骨質疏鬆症原則，因此可知，骨質疏鬆症與中醫「腎虛」有密切關係。

(2) 脾胃與骨質疏鬆：胃主受納、脾主運化，為後天之本、氣血生化之源，脾胃虛衰是骨質疏鬆症發生的重要因素。《素問·生氣通天論》曰：「是故謹和五味，則骨正筋柔，氣血以流，腠理以密，如是則

骨氣以精，謹道如法，長有天命」；《靈樞·決氣篇》曰：「穀氣入滿，淖澤注於骨」均說明脾胃為後天之本，氣血生化之源，主百骸，為氣機升降之樞，交通上下，灌溉四旁，化生氣、血、精、津以充養先天之精。若脾胃功能衰憊，氣化失司，樞機不利，血不化精，則精微虧不能灌溉，血虛不能營養，氣虛不能充達，無以生髓養骨，而致骨質疏鬆症。而《靈樞·根結》所載：「痿疾者取之陽明」以及《素問·痿論》所提出的：「治痿獨取陽明」，都是認識到了痿證與脾胃的重要關係。

- (3) 肝與骨質疏鬆：肝為將軍之官，主疏泄，主藏血，在體合筋，具有貯藏血液和調節血量的功能。肝的疏泄功能正常，血和津液才得以正常運行和輸布代謝，脾胃才能正常運化和腐熟水穀精微。若肝氣鬱結，肝失疏泄，就會影響血和津液的生成及運行，進而影響對筋骨的營養。肝藏血，腎藏精，而精血之間存在著相互滋生和相互轉化的關係，腎中精氣的充盛，有賴於血液的滋養，若肝血不足，則可導致腎精虧損，肝陰不足，亦可引起腎陰虧虛。

骨質疏鬆症與傳統中醫治療

中醫是如何治療骨質疏鬆症呢？基本上，中醫還是按照「辯證論治」，強調改善體質的偏差，歸納中醫臨床上常見的證型[22, 23]：

- (1) 腎陽虛：臨床多見腰脊、髌膝等處冷痛，屈伸不利，精神萎靡，面色蒼白或黎黑，形寒肢冷，喜溫喜按，夜尿頻多，大便溏瀉，肢體痿軟，舌淡苔白，脈沉遲弱，治以右歸丸或金匱腎氣丸加減。
- (2) 腎陰虛：現代生活極易產生「陽常有余，陰常不足」的狀態，一般臨床上也以陰虛症為多見，表現為腰背酸痛，時發骨痛，喜揉喜按，腰背部自感灼熱，腿膝無力，遇勞更甚，臥則減輕，兼有五心煩熱，失眠多夢，形體消瘦，溲黃便乾，舌紅少苔，脈細數。多:left歸丸或知柏地黃丸加減。
- (3) 腎精不足：若年老腎精不足，充養乏源，骨失濡潤，則骨體枯槁，無以作強，骨枯髓減而發為骨痿。臨床多表現為腰背酸痛，足痿無力，發脫齒搖，早衰，耳鳴耳聾，骨骼痿軟，動作遲緩，健忘恍惚，精神萎靡，性機能低下，舌淡苔白，脈細弱。臨證多以虎潛丸加減。
- (4) 脾腎陽虛：脾為後天之本，腎為先天之本。脾之健運，化生精微，須借助於腎陽的溫煦，故有「脾陽根於腎陽」之說。腎中精氣亦有賴於水谷精微的培育和充養，才能不斷充盈和成熟。因此，脾與腎在生理上是後天和先天的關係，它們相互資助，相互促進。在病理上亦常相互影響，互為因果。臨床多見於腰髌冷痛，腰膝酸軟，甚

則彎腰駝背，四肢怕冷，畏寒喜暖，面色蒼白，或五更泄瀉，或下利清穀，或小便不利，面浮肢腫，甚則腹脹如鼓，舌淡胖，苔白滑，脈沉弱。多以金匱腎氣丸或右歸丸合附子理中丸加減治療。

- (5) 肝腎陰虛：臨床上腎陰虛與肝陰虛常同時發生，而出現肝腎陰虛的證候。肝腎虧虛，精血不能濡養筋骨，久則髓枯筋萎，發為骨痿。臨證多見腰背隱痛酸軟，足跟作痛，喜按喜揉，遇勞則甚，可伴眩暈耳鳴，口乾舌燥，心煩失眠，潮熱盜汗，便乾溲黃，舌紅少苔，脈細數。治以六味地黃丸或左歸丸合一貫煎加減。

- (6) 氣血虧虛：脾虛化源不足或肝虛不能藏血於內，均可導致氣血虧虛證。臨床上多見腰背酸軟而痛，四肢乏力，尤以下肢為甚，關節酸痛，頭暈目眩，少氣懶言，乏力自汗，面色淡白或萎黃，心悸失眠，舌淡而嫩，脈細弱。多以八珍湯或十全大補湯加減治療。

第三節 骨質疏鬆症與中藥研究

近幾年來，由於科技的發達，使得我們對傳統中藥有進一步的認識，以下介紹近年來一些學者針對單味中藥治療骨質疏鬆的研究情形：
[24]

(1)淫羊藿：又稱仙靈脾，味辛、甘，性溫，歸肝、腎經。在《本草綱目》中稱有「補命門，益精氣，堅筋骨，實腰膝，強心力之功效」。殷曉雪等研究顯示，5mg/ml的心葉淫羊藿水提液可以促進成骨細胞(OB)的增殖，其中的單體成分淫羊藿苷可以促進OB的分化及礦化，並能促進骨髓基質細胞向OB分化，在基因水準上促進BMP2-mRNA的表達。

(2)骨碎補：性溫，味苦，歸腎、肝經。有補腎、活血止血續傷之功效。《本草綱目》曰：「治耳鳴及腎虛久瀉、牙痛」。謝雁鳴等研究，骨碎補總黃酮能明顯提高去卵巢大鼠骨密度，同時具有調整血清IL-4，IL-6，TNF-A水準的作用。IL-6，TNF-A等細胞因數能夠促進破骨細胞(OC)的骨吸收，與絕經後OP密切相關。他們還用骨碎補總黃酮來觀察去卵巢骨密度的骨組織形態計量學變化，結果表明骨碎補對去卵巢所致的OP具有明顯的防治作用。

(3)葛根：性涼，味甘，歸脾、胃經，鄭高利等利用葛根總異黃酮(TIP)

治療去卵巢大鼠骨質疏鬆模型，測定大鼠全身骨礦含量和骨密度及骨生物力學強度，結果表明，大劑量組和小劑量組均使骨礦總量和骨密度、股骨和脛骨相對體積品質、股骨最大負荷和股骨結構強度提高。兩組均可使大鼠子宮重量增加。

(4)蛇床子：性溫，味苦，歸腎經。來源於傘形科植物蛇床的乾燥成熟果實，具有補腎壯陽的作用。《本草綱目》謂其治：「任腰酸疼，四肢頑痹」。《神農本草經》稱其「除痺氣，利關節」。由於蛇床子中含有的香豆素類成分具有弱的雌激素樣生物作用，一些研究者，對蛇床子總香豆素的抗 OP 作用作了系列研究，結果表明蛇床子總香豆素可以對抗連續使用糖皮質激素和切除卵巢兩種模型的動物骨質疏鬆，其抗 OP 作用可能是通過促進 OB 的增殖和分泌 ALP，抑制 OB 分泌 NO，IL-1 和 IL-6 實現。

(5)杜仲：性溫，味甘，歸肝、腎經。《神農本草經》列為上品，謂其「主治腰膝痛，補中益精氣，堅筋骨，久服，輕身耐老」。胡金家等用 3 種杜仲葉提取物(I、II、III)作用于培養的 OB，結果 II、III 提取部位可促進 OB 增殖和 ALP 活性。張立等切除大鼠雙側卵巢建立糖尿病(DM)合併去勢大鼠 OP 模型，研究杜仲葉醇提取物對 DM 合併去勢大鼠 OP 的作用，結果顯示，杜仲葉醇提取物能提高模型

大鼠的股骨線密度、面密度及其血清 E2 含量。提示杜仲葉具有較強的類雌激素樣作用，可阻止 DM 合併去勢大鼠骨丢失。



第四節 骨質疏鬆症與針灸研究

傳統的針灸療法根據：「腎主骨生髓，為先天之本；脾主運化生肌，為後天之本。」的理論為指導，通過刺激相關的穴位，在提高骨質疏鬆症內分泌性激素、調節骨代謝、增加、骨密度、緩解疼痛等方面，均獲初步療效。目前針對骨質疏鬆症臨床應用穴位頻率較高的穴位為「腎俞、脾俞、命門、關元、委中、太谿、腰陽關、陽陵泉、足三里、懸鍾等」。而大陸學者趙英俠等利用神經解剖學技術，發現命門穴與卵巢、腎上腺素在脊神經一定截斷互相重疊，為針灸提高雌性激素水平提供理論依據[25]。



第五節 骨質疏鬆症相關動物模型及評估

根據美國食品暨藥物管理局於 1994 年所發佈一篇骨質疏鬆治療開發導引指出，適當的動物模型是一具安全性且可用來評估骨質疏鬆治療方式的工具[26]，而大鼠是一廉價且易於飼養之實驗動物[27]，因此本節將探討一些常用的骨質疏鬆大鼠模型[28]。

常用動物模型

(1) 卵巢切除動物模型

實驗方法：將成熟雌性大鼠卵巢切除，約 60-90 天後可觀察到雌激素下降、促黃體素及促濾泡素增加，破骨細胞活動力上升，造骨細胞功能代償性上升，造成骨顯微構造退化、強度下降。

觀察對象：模擬婦女停經後骨質疏鬆情況。

(2) 固定肢體動物模型

實驗方法：利用水浸法、尾巴懸吊法或後肢懸吊法制動大鼠，三週左右血清可發現骨特异性 ALP 及骨鈣素都有顯著上升。

觀察對象：模擬廢用型骨質疏鬆或太空飛行對骨密度影響。

(3) 注射類固醇動物模型（類固醇引起骨質疏鬆）

實驗方法：大鼠注射 methylprednisolone sodium succinate

($1\mu\text{g/g/day}$) 二個月，可觀察到骨量減少，骨強度減少。

觀察對象：模擬類固醇造成骨質疏鬆或是婦女停經後長期造成骨折風險上升的模型，但不適合用於開發抑制破骨細胞作用的藥物

骨質疏鬆動物模型的評價指標

針對骨質疏鬆動物模型的評估，常選用動物後肢骨和腰椎骨作為全身四肢骨與中軸骨的代表進行分析。需綜合骨密度、顯微結構、力學特性和生化指標…等方面綜合評估。

(1)骨密度：骨密度指骨骼單位面積中礦物質的含量。測量方法包括兩大類：非侵入性測量：採用單光子(SPA)和雙光子吸收法(DPA)，雙能 X 線吸收法(DEXA)定量 CT(pQCT)等測量；這些手段主要利用骨組織對能量吸收的差異，來間接評估體內骨礦物質含量；SPA 與 DPA 是傳統的骨量測量辦法，操作簡單，費用低，但無法測量軟組織變異較大的部位，如中軸骨，髖關節等；DEXA 可排除軟組織的干擾，很大程度上提高了測量的靈敏度與精確度，近十年來得到了廣泛的應用；pQCT 精確度最高，可定量測出骨重吸收與形成的比值，並可對骨三維結構進行在體即時監測，與

DEXA 相比可大大縮短研究時間。侵入性測量：通過直接測量標本的物理密度，由待測骨標本的品質和體積計算獲得；該方法快捷、經濟，且測量結果與 DEXA 資料有高度相關性，在骨質疏鬆模型及藥效評估中具有一定應用價值[29]。

(2)顯微結構：骨組織形態計量學技術(Histomorphometry)是利用鐳射掃描共聚焦顯微鏡對骨切面進行掃描，後用相應圖像分析軟體進行分析，從而獲得骨小樑數目、間隔、厚度、面積百分率、骨形成率等方面的資料的一種方法。該技術可以準確地反映骨量和微結構的變化，並能客觀地記錄經過治療後骨組織的變化；如與螢光標記法結合，可通過觀察染料在骨中的存留時間及骨細胞、成骨細胞數目變化來間接推斷所選切面骨形成和重吸收狀況。缺點在於此法僅為二維形態觀察，取樣有限，整體改變情況難以觀察。骨組織微損傷指骨組織經 H/E stain 染色後在光學顯微鏡下或掃描電鏡下所觀察到的骨基質的損害。該指標反映出隨著動物老化，骨組織中微小破裂逐漸增加，骨結構性能逐漸減退的狀況同骨質疏鬆性骨折的風險直接相關。由於骨質疏鬆主要防治目標即是防治

骨質疏鬆性骨折，故該指標在評價骨結構性能改變時有很大的實際應用價值。

(3)力學特性：與人類不同，各模型動物均不易自然發生骨量減少引起的脆性骨折。但可通過分析骨的力學特性，來間接反映骨骼的骨礦鹽的分佈、骨小樑的空間結構等結構形態學特性，進而評價發生骨折的風險。常用的測量指標有骨幹中段3點彎曲最大載荷、抗扭轉強度、椎體骨的抗壓強度及破壞荷載等。

(4)生化代謝：成骨作用指標是造骨細胞在其不同發育階段的直接或間接的表達產物，反映成骨細胞功能和骨形成狀況，主要包括：骨源性鹼性磷酸酶(bone-specific ALP)、骨連接蛋白(collagen)、骨鈣素(osteocalcin)、I型膠原氨基前肽(Procollagen type I N propeptide)、I型膠原羧基前肽等(Procollagen type I C propeptide)。這些指標都可在血清或者血漿中檢測。

第三章 材料與方法

第一節 實驗流程

本實驗設計共分三組，探討電針刺激卵巢切除大鼠胃經「足三里」(ST36)及脾經「三陰交」(SP6)穴位是否可以改善卵巢切除大鼠骨質流失情形。第一週將實驗大鼠分組，每組 6 隻大鼠，控制組(CON)實施假手術，而卵巢切除組(OVX)及電針組(OVX+EA)實施卵巢切除手術，手術結束後休息一週然後開始實驗。而每週我們固定將大鼠秤重及抽取血清，實驗流程如圖 3.1.1。



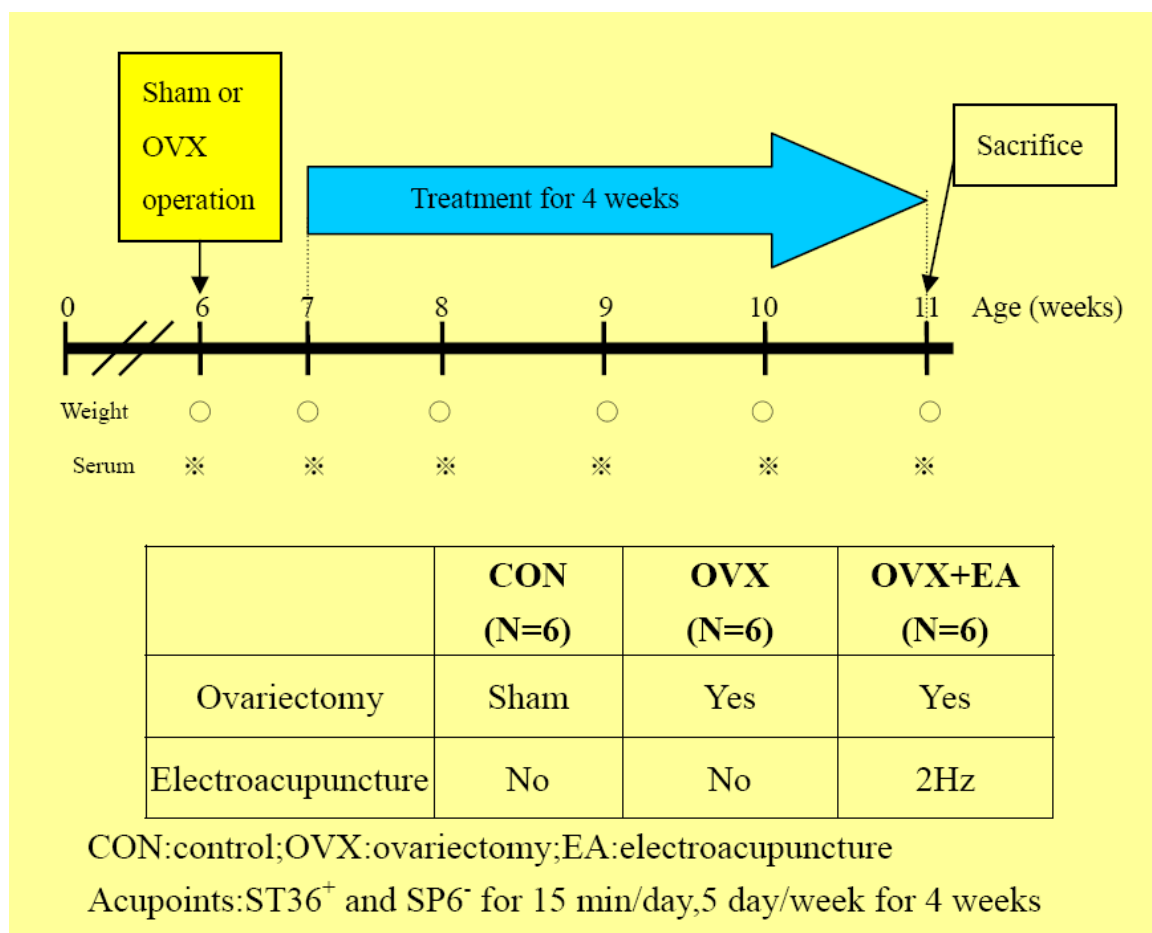


圖 3.1.1 探討電針刺激對改善卵巢切除大鼠骨質流失效應實驗流程圖(CON:控制組,OVX:卵巢切除組,OVX+EA:電針組),
ST36:足三里,SP6:三陰交。

第二節 動物模型之建立

動物：

本研究採用樂斯科實驗動物繁殖及研究中心(BioLASC0 Taiwan Co., Ltd.)所提供之6周齡Sprague-Dawley(SD)系雌性大鼠，體重約140~160g。本實驗所使用之實驗動物，係遵照中華民國實驗動物學會編定實驗動物管理與使用指南之規定照顧與飼養，飼養在中國醫藥大學動物中心中，飼養室溫度為 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、濕度 $55\pm 5\%$ ，燈光明暗比：12/12小時

術前準備：

大鼠先禁食12小時，手術台及手術器械備齊，以choloral hydrate(400mg/Kg)麻醉大鼠，剔除腹部鼠毛，並固定於手術台上。

手術步驟：

1. 以70%酒精消毒腹部皮膚。
2. 用剪刀將腹部皮膚縱向剪開約1公分，並剪開肌肉層一小洞。
3. 以鑷子將一側卵巢拉出。
4. 以止血鉗夾住子宮角，用3/0尼龍線綁起來。
5. 以剪刀剪開卵巢後，將子宮角放回腹腔。
6. 另一側卵巢切除方式同上。
7. 以3/0角針縫合肌肉及皮膚。

8. 以無菌優碘消除傷口，待其恢復知覺後，將大鼠送回實驗動物中心飼養，一週後開始實驗。



第三節 動物氣體麻醉操作流程

使用本校貴儀中心所提供 IVIS 200 系統(Xenogen)替大鼠進行麻醉，麻醉氣體選用 Isoflurane，每次實驗所有大鼠均接受 15 分鐘麻醉時間，電針組同時接受電針。

氣體麻醉流程：

1. 確認 Isoflurane 的量
2. 將大鼠放置於 chamber 中。
2. 打開氧氣鋼瓶調整氣壓至 4 kg/cm^2
3. 打開氣麻機總開關確認氣壓大於 6LPM
4. 打開氧氣供應開關
5. 將 Isoflurane 蒸汽機旋至 2.5%
6. 將 Chamber 開關調整至 3 LPM
7. 待大鼠麻醉後，將其移至 IVIS 平台。
8. 將 IVIS Flow 麻醉開關調整至 1.5 LPM
9. 開始電針實驗操作

第四節 大鼠足三里及三陰交定穴與電針實驗模型

1. 取穴方法採取實驗針灸學教材方法[30]：

足三里：膝關節後外側，在腓骨小頭下約 5mm 處。

三陰交：後肢內踝尖直上 10mm 處

2. 針具採用 0.5 寸 36 號針(宇光公司)，垂直刺入肌肉層約 2-5mm。

3. 電刺激器選用 Trio 300 多功能電刺激器 (Ito Co., Japan)。正

極接在小腿兩側足三里，負極接在三陰交。刺激參數為頻率 2Hz、

電流 1-2mA (實際電流強度以小腿肌肉收縮為度) [31]，電針時

間每次 15 分鐘。每週 5 次，共 4 週 (總次數為 20 次)。





圖 3.4.1 IVIS 200 系統





圖 3.4.2 實驗情形。左：電針組進行麻醉電針情形，右：Trio 300 多功能電刺激器（Ito Co., Japan）。



第五節 血清 ALP 之 ELISA 測定

1. 實驗動物每週採血一次。採血部位為尾靜脈，每次採血 300~500 μ l，採血後將樣本皆置試管(eppendorff tube)，並將所有樣本離心 3000rpm，5min。取上清液，存放於-20°C 冰箱後待測。
2. 測量時將樣品管放置室溫解凍。
3. 將樣品血清離心 3000rpm 10min。
4. 取血清樣品上清液 20 λ 加入 ALP ELISA kits (Alkaline phosphatase yellow PNPP liquid substrate system for ELISA, Sigma) solution 20 λ ，以 1:1 比例混和於 96-well 中，然後置入 37°C 培養箱中 30 分鐘。
5. 以酵素免疫分析儀(Bio-Tek, Winooski, VT)測量(OD 450nm)
6. 將結果分析統計。

第六節 骨切片包埋及染色法

將犧牲後的大鼠脛骨進行切片染色，流程如下：

切片前處理

(1)75%酒精泡 overnight fix tissue, 4%EDTA 浸泡 2 個禮拜置於 4 °C 冰箱中 2 天換 1 次 4%EDTA, 之後放入包埋盒石蠟切片。

(2)準備染色

脫臘處理

(1)xylene :10 分鐘

(2)100% alcohol :5 分鐘

(3)95% alcohol :5 分鐘

(4)90% alcohol :5 分鐘

(5)80% alcohol :5 分鐘

(6)70% alcohol :5 分鐘

(7)PBS 浸洗 5 分鐘



染色

(1)染劑：Hematoxylin、Eosin

用 70% alcohol 配製 0.5% Eosin Y disodium

(2)Hematoxylin：5 分鐘

(3)水（自來水）洗沖掉 Hematoxylin

(4)d. d. water 浸潤數秒

(5)PBS 溶液中使組織切片呈藍色即可（約 5 分鐘）

(6)95% alcohol：30 秒

(7)eosin：30 秒

(8)95% alcohol 浸潤數秒

(9)100 %alcohol 浸潤數秒

(10)xylene I:5 分鐘

(11)xylene II:5 分鐘

(12)xylene III: 浸泡直到用膠封片

(13)觀察

第七節 統計分析

所得資料以平均值±標準差表示，處理組與控制組的數據，採用 student' s t-test, 設定 $p < 0.05$ ，判定是否有統計上差異。兩種處理組數據間(卵巢切除組及電針組)，則採用單項變異數分析(one-way ANOVA), $p < 0.05$ 分析，判定是否有達統計上之顯著水準。



第四章 結果

第一節 雙側卵巢切除與電針足三里及三陰交對大鼠體重影響

大鼠隨機分為三組，控制組(CON)實施假手術，卵巢切除組(OVX)及電針組(OVX+EA)實施雙側卵巢切除術，開始進行實驗後每週測量大鼠體重一次。實驗進行中各組體重逐漸上升，卵巢切除組大鼠體重於第四週及第五週明顯較控制組及電針組大鼠來的重，而電針組自第三週起至第五週，體重明顯較卵巢切除組來的輕。

大鼠體重(g)	CON(n=6)	OVX(n=6)	OVX+EA(n=6)
第一週	146.7±8.4	151.3±11.1	145.5±1.8
第二週	197.2±13.4	201.7±14.7	200.8±12.8
第三週	225.0±12.2	251.7±2.0	209.2±9.2#
第四週	239.2±12.0	274.8±5.3*	253.0±1.5#
第五週	256.3±11.7	294.8±15.9*	273.8±3.9#

表 4.1.1 大鼠體重變化，* $p < 0.05$ vs CON group(student' s t-test)，# $p < 0.05$ (one-way ANOVA).

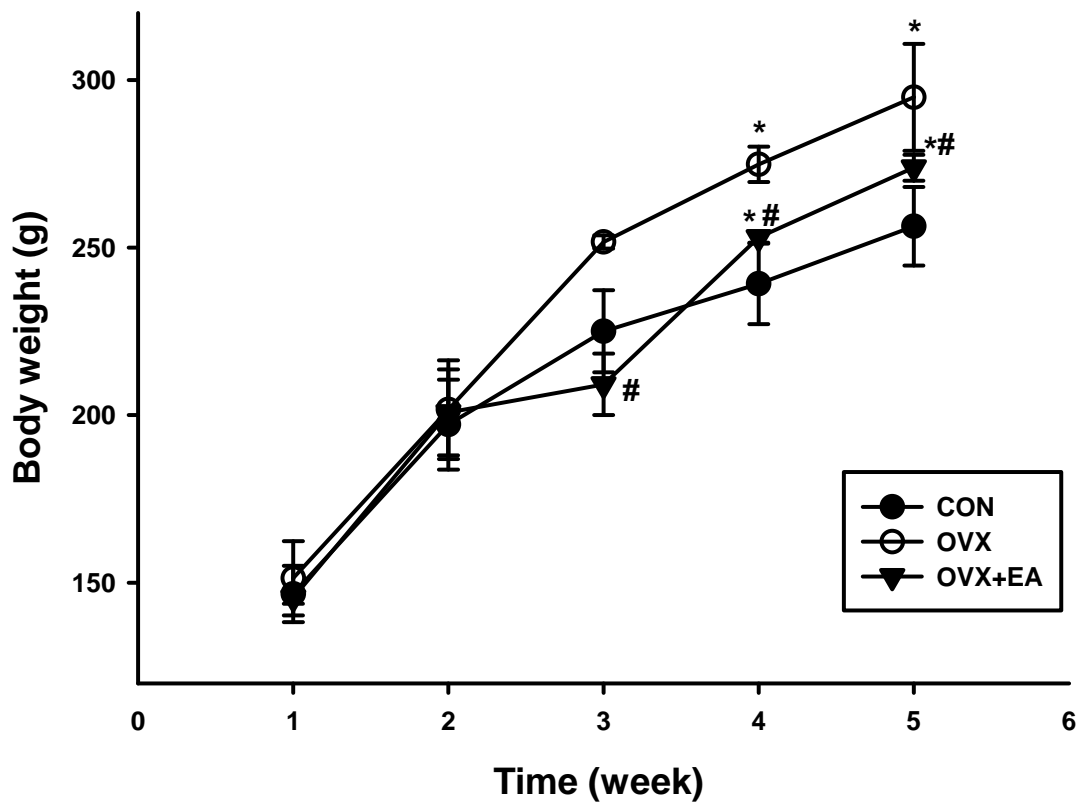


圖 4.1.1 大鼠體重變化圖。實驗進行中各組體重逐漸上升，卵巢切除組大鼠體重於第四週及第五週明顯較控制組及電針組大鼠來的重，而電針組第四週後至第五週，體重明顯較卵巢切除組來的輕。 $*p < 0.05$ vs CON group(student' s t-test)， $\#p < 0.05$ (one-way ANOVA)。

第二節 雙側卵巢切除與電針足三里及三陰交對大鼠成骨作用影響

實驗進行中，每週抽取大鼠血清，測量與成骨作用相關指標。利用 ELISA 方法測定大鼠血清中鹼性磷酸酶(ALP)活性，於第四、五週時卵巢切除組大鼠 ALP 含量明顯下降，而電針組大鼠於第四、五週血清中 ALP 含量明顯高於卵巢切除組。

ALP activity	CON(n=6)	OVX(n=6)	OVX+EA(n=6)
第一週	0.237±0.015	0.236±0.040	0.245±0.019
第二週	0.273±0.039	0.257±0.049	0.277±0.059
第三週	0.284±0.045	0.227±0.033	0.295±0.069
第四週	0.277±0.044	0.216±0.025*	0.297±0.048#
第五週	0.286±0.047	0.202±0.009*	0.293±0.050#

表 4.2.1 大鼠血清 ALP 活性變化，*p<0.05 vs CON

group(student' s t-test)，#p<0.05 (one-way ANOVA).

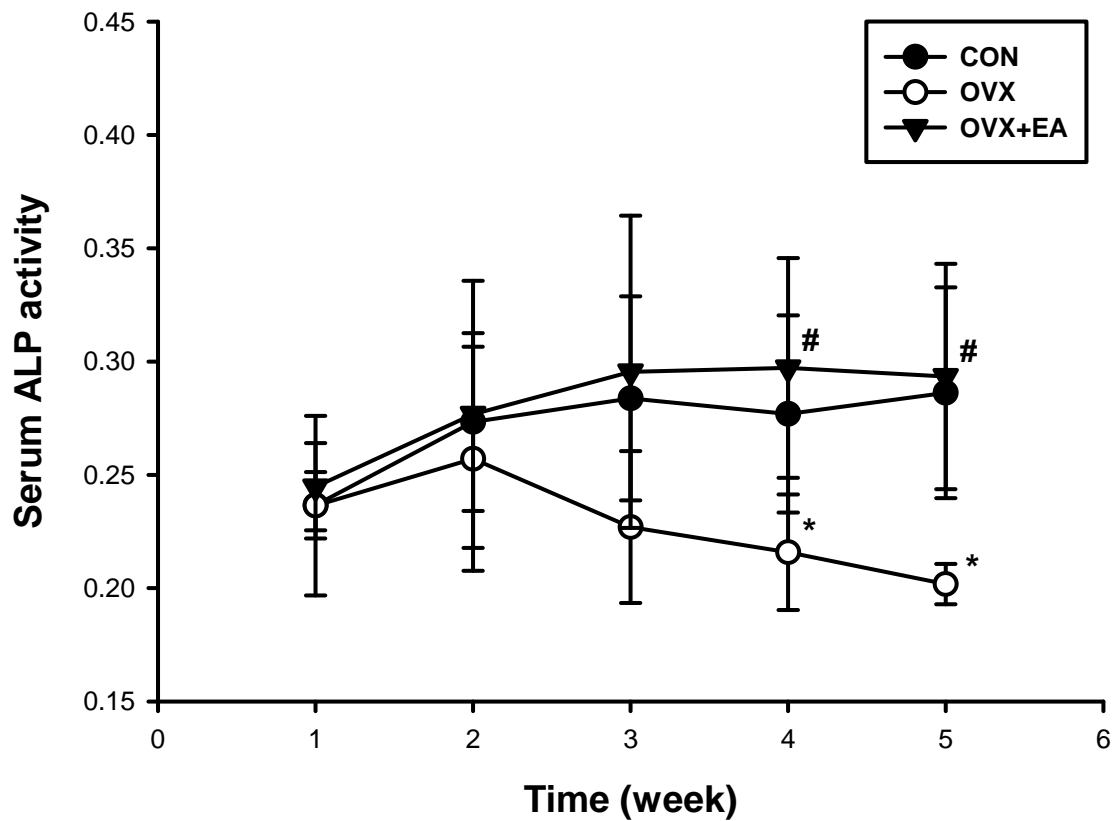


圖 4.2.1 大鼠血清 ALP 活性變化圖。第四、五週時卵巢切除組大鼠 ALP 含量明顯下降，而電針組大鼠於第四、五週血清中 ALP 含量明顯高於卵巢切除組。 $*p < 0.05$ vs CON group(student' s t-test), $\#p < 0.05$ (one-way ANOVA).

第三節 雙側卵巢切除與電針足三里及三陰交對大鼠骨顯微構造影響

實驗結束後，將大鼠脛骨固定、切片，並利用 H/E stain 染色後，可觀察到卵巢切除組大鼠骨顯微構造有空洞化的情況，利用 CT 測量大鼠骨質密度及骨質含量，卵巢切除鼠骨質密度及骨質含量明顯低於控制組，而電針組骨質含量明顯高於卵巢切除組。

Tibia	CON(n=6)	OVX(n=6)	OVX+EA(n=6)
BMD (g/cm ³)	0.137±0.005	0.121±0.005*	0.130±0.006
BMC (g)	0.385±0.016	0.346±0.020*	0.370±0.014#

表 4.3.1 大鼠脛骨 BMD 及 BMC 比較。*p<0.05 vs CON

group(student' s t-test), #p<0.05 (one-way ANOVA).

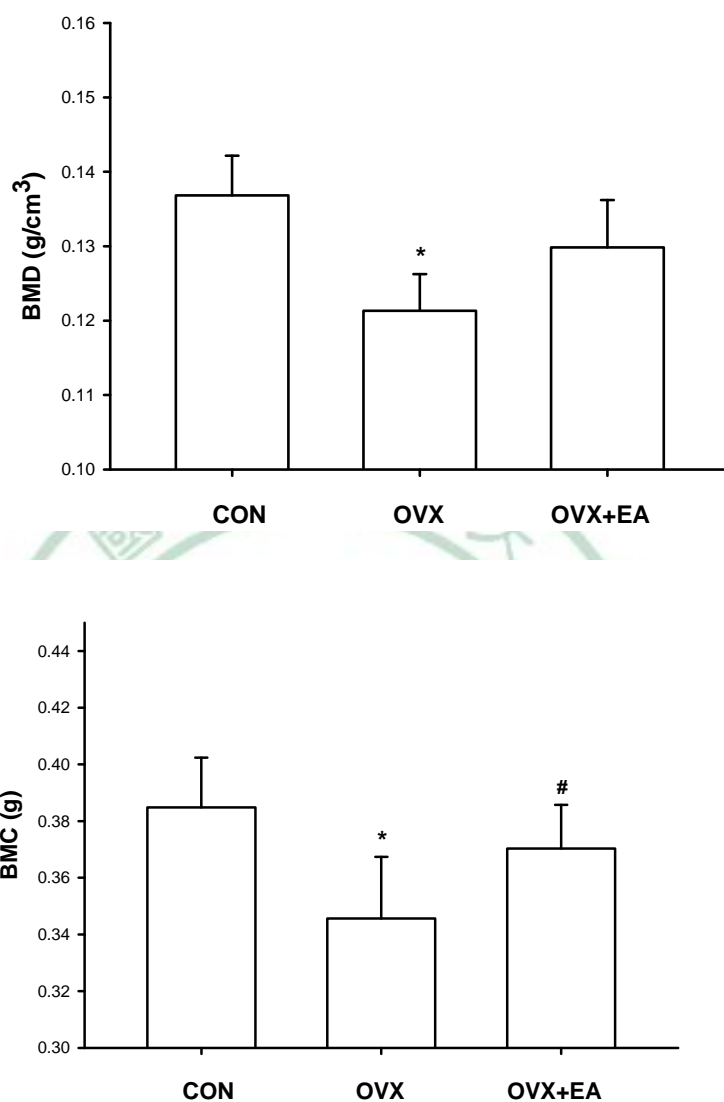


圖 4.3.2 大鼠脛骨 BMD 及 BMC 比較圖。上圖：OVX 組 BMD 明顯較 CON 組低，下圖：OVX 組 BMC 明顯較 CON 組低，OVX+EA 組 BMC 明顯較 OVX 組高。 * $p < 0.05$ vs CON group (student's t-test), # $p < 0.05$ (one-way ANOVA).

第四節 雙側卵巢切除與電針足三里及三陰交對大鼠脛骨重量及長度及力學特性影響

實驗結束後，將大鼠脛骨分離，將肉剔除後測量長度及重量，各組長度並無顯著差異，而卵巢切除組重量明顯低於控制組，電針組重量則明顯高於卵巢切除組。

Tibia	CON(n=6)	OVX(n=6)	OVX+EA(n=6)
Length (mm)	3.73±0.01	3.74±0.02	3.72±0.03
Wet weight (g)	761.8±15.9	707.8±18.4*	755.5±32.6#

表 4.4.1 大鼠脛骨長度及重量比較* $p < 0.05$ vs CON group (student' s t-test), # $p < 0.05$ (one-way ANOVA).

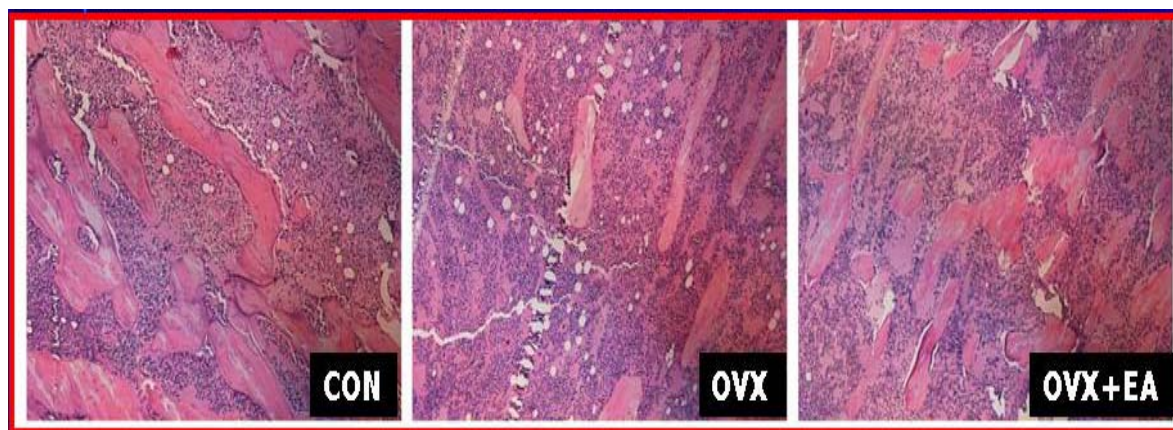


圖 4.4.1 各組大鼠近端脛骨骨幹骺端切片(H/E stain)，可見卵巢切除組骨小樑數目減少，空洞化明顯，而電針組則無此現象。



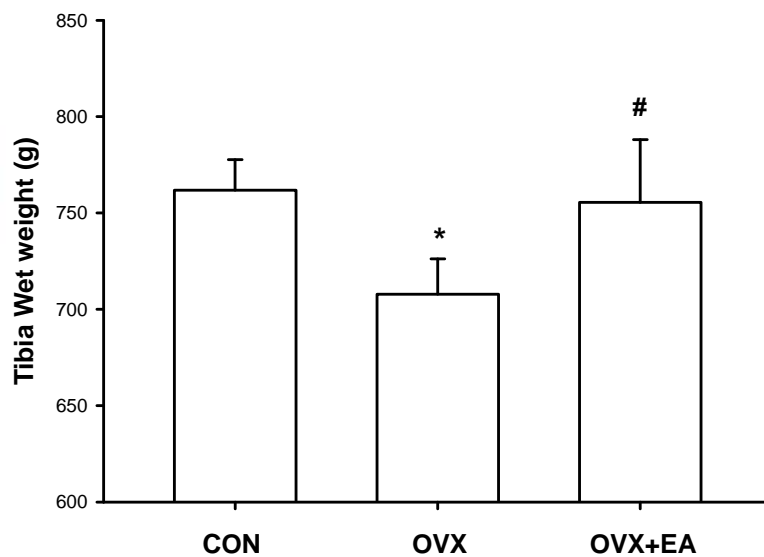
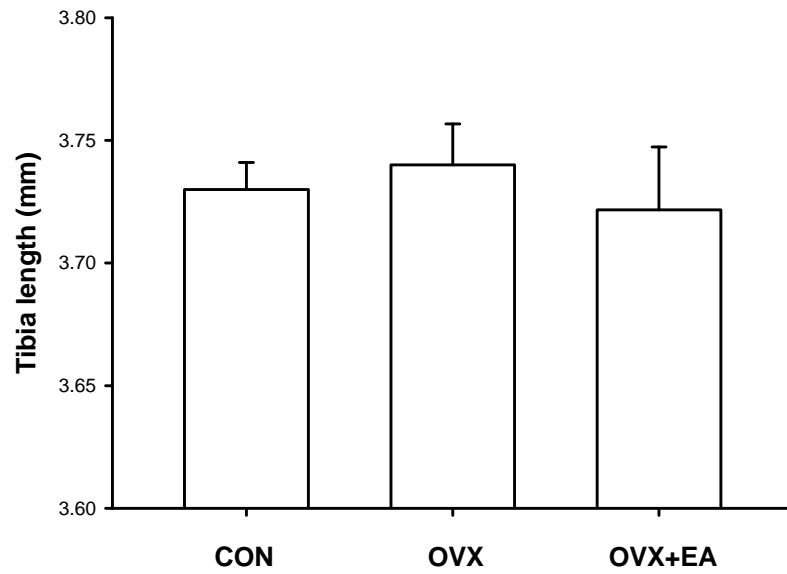


圖 4.4.2 大鼠脛骨長度及重量比較圖。上圖：長度部分無明顯變化，下圖：OVX 組濕重明顯較 CON 組低，而 OVX+EA 組濕重明顯較 OVX 組高。

* $p < 0.05$ vs CON group (student's t-test), # $p < 0.05$ (one-way ANOVA).

第五章 討論

由於經濟的繁榮及醫藥的進步，國人平均壽命大幅延長，人口老化的結果，慢性病已成為國人最主要的健康問題。自 1993 年台灣 65 歲以上老年人口已超過百分之七，符合 WHO 之“高齡化國家(aging society)”定義，已邁入老年化社會；2007 年老人人口比例更達到 10% 以上[32]，為目前衛生署「2020 健康國民白皮書」的焦點族群之一[33]。世界衛生組織(World Health Organization, WHO)列出八大類未來全球化的慢性疾病重要課題，其中第六類「慢性風濕病況 Chronic Rheumatic Condition」包括風濕關節炎(rheumatic arthritis)，退化性骨關節炎(osteoarthritis)、骨質疏鬆症(osteoporosis)、及脊椎疾患(spinal disorders)、重大肢體創傷(severe limb trauma)[34]，可見骨質疏鬆疾病是未來一個重要的課題。

目前有多種藥物可以用來預防停經後婦女骨質流失情況，而一些機械性的刺激也可以用來治療骨折。但是針灸是否可以改善停經後婦女骨質流失情形目前尚不清楚，因此本實驗我們使用卵巢切除大鼠，模擬停經後婦女骨質快速流失情形，並電針「足三里」及「三陰交」兩穴，探討電針是否可以改善卵巢切除大鼠骨質流失情形。

過去並沒有文獻探討電針足三里及三陰交對卵巢切除大鼠體重的影

響，由圖 4.1.1 可以知道，大鼠卵巢切除組(OVX)後第四、五週體重明

顯高於控制組(CON)，這種情況和停經後婦女體重增加情形類似，而電針組(OVX+EA)於第三週後，體重即明顯低於卵巢切除組(OVX)，代表電針可以有效避免大鼠卵巢切除後體重增加。

實驗進行中每週抽取大鼠血清，並測量相關骨生化指標，骨生化中和成骨作用相關指標如總ALP及骨特异性ALP或血清中osteocalcin、procollagen type I C-或N-terminal propeptides[35]。由圖4.2.1可知，卵巢切除組大鼠於第四週後血清中ALP含量明顯少於控制組，而電針組血清中ALP含量並無減少，並在第四週後ALP含量明顯高於卵巢切除組。這可能解釋了為何電針可以改善卵巢切除後大鼠骨質減少的情形，也許是透過刺激骨母細胞分泌成骨相關因子，造成骨形成作用增加。

實驗結束後(第五週)將大鼠犧牲並且取出脛骨並進行固定、切片及染色，可以看到卵巢切除組骨顯微構造明顯空洞化，骨小樑減少(圖4.4.1)，這模擬了停經後婦女骨質流失的情形；而電針組大鼠脛骨切片可以看到仍保留相當多的骨小樑，空洞化情況也較少，而測量大鼠脛骨長度及重量發現，脛骨長度並無明顯改變，但卵巢切除組大鼠脛骨重量明顯較控制組來的低，電針組脛骨重量較卵巢切除組來的高。將脛骨以CT方式測量骨質密度及骨質含量也有類似的結果，卵巢切除組骨質密度及骨質含量均較控制組來的低，電針組骨質含量則較卵巢切除組來的高，但骨質密度電針組並無統計上的意義。由這些結果我們可以知道，電針的確可以改善卵巢切除後大鼠骨質流失的情況。

實驗動物均飼養在一個高度控制的環境中，除了環境外，並餵食相同飼料，但是人類因為種族、年齡及生活方式的不同，並無法確定是否電針可以造成相同的結果，而實驗動物只能呈現相關血清、顯微組織的變化，並無法模擬停經後婦女骨折風險增加的情況。

由以上討論我們可以知道，大鼠卵巢切除後經電針刺激足三里及三陰交，的確可以改善骨質流失情形，也許是透過刺激骨母細胞分泌相關造骨因子如 ALP 所形成，但是詳細作用機轉需要透過進一步的實驗才能更加明瞭。



第六章 結論

總結來說，我們的實驗呈現了電針卵巢切除大鼠雙側足三里及三陰交穴可以改善卵巢切除後骨質流失的情形並且增加骨質顯微構造及強度，可能是透過刺激骨母細胞分泌造骨相關因子如 ALP，這提供了未來發展電針方式治療停經後婦女骨質疏鬆並預防骨折的一個證據。



參考文獻

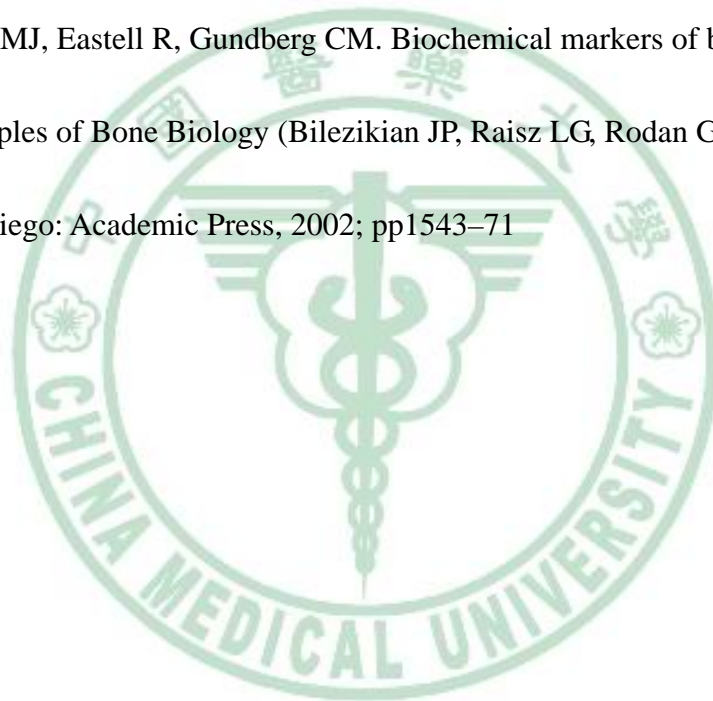
1. Kanis JA, Melton LJ 3RD, Christiansen C, Johnston CC, Khaltav N, The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 1994; 9(8): 1137-1141.
2. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporos Int*, 1997; 1-6.
3. IOF. Facts and statistics about osteoporosis and its impact. Available at:<http://www.iofbonehealth.org>, 2008.
4. Yang NP, Deng CY, Chou YJ, Chen PQ, Lin CH, Chou P, Chang HJ. Estimated prevalence of osteoporosis from a Nationwide Health Insurance database in Taiwan. *Health Policy*, 2006; 75(3): 329-37.
5. Heckman JD, Ryaby JP, McCabe J, Freym JJ, Kilcoyne RF. Acceleration of tibial fracture-healing by non-invasive, low-intensity pulsed ultrasound. *J Bone Joint Surg*, 1994; 76: 26-34.
6. 吳明霞, 周琳瑛, 陳文列, 吳炳煌, 劉獻祥. 針灸對去卵巢大鼠骨密度、強度及超微結構的影響. *中國臨床康復雜誌*, 2004; 8(18): p. 3546-7.
7. 張華, 馮新送, 莊洪, 劉慶思, 魏合偉. 中醫對原發性骨質疏鬆症的認識及辨證施治研究, *中醫正骨*, 2001; 13(3): p. 55-56.
8. Consensus Development Conference. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med*, 1993; 94:

- 646-649.
9. Chie WC, Yang RS, Liu JP, Tsai KS. High incidence rate of hip fracture in Taiwan: estimated from a nationwide health insurance database. *Osteoporos Int*, 2004; 15: 998-1002.
 10. 行政院衛生署食品衛生處.台灣地區老人營養健康狀況調查 1999-2000 調查結果老年人骨質健康狀況。2004.
 11. Lin JD, Chen JF, Chang HY, Ho C. Evaluation of bone mineral density by quantitative ultrasound of bone in 16862 subjects during routine health examination. *Br J Radiol*, 2001; 74: 302-306.
 12. Weitzmann MN, Pacifici R. The role of T lymphocytes in bone metabolism. *Immunol Rev*, 2005; 208: 154-168.
 13. Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J Clin Invest*, 2006; 116(5): 1186-1194.
 14. Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F, Brun J, Crouzet B, Arnaud S, Delmas PD, Meunier PJ. Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in the elderly women. *N Engl J Med* 1992; 327(23): 1637-1642.
 15. Vehmanen L, Elomaa L, Blomqvist C, Saarto T. Tamoxifen treatment after adjuvant chemotherapy has opposite effects on bone mineral density in premenopausal patients depending on menstrual status. *Clin Oncol*, 2006; 24(4): 675-680.

16. Powles TJ, Hickish T, Kanis JA, Tidy A, Ashley S. Effect of tamoxifen on bone mineral density measured by dual-energy x-ray absorptiometry in healthy premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Oncol*, 1996; 14(1): 78-84.
17. Arnala I, Saastamoinen J, Alhava EM. Salmon calcitonin in the prevention of bone loss at perimenopause. *Bone*, 1996; 18(6): 629-632.
18. Liberman UA, Weiss SR, Broll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, Rodriguez-Portales J, Downs RW Jr, Dequeker J, Favus M Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333(22): 1437-1443.
19. Harris ST, Gertz BJ, Genant HK, Eyre DR, Survill TT, Ventura JN, De Brock J, Ricerca E, Chesnut CH 3d. The effect of short term treatment with alendronate on vertebral density and biochemical markers of bone remodeling in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993; 76(6): 1399-1406.
20. Cranney A, Wells G, Willan A, Griffith L, Zytaruk N, Robinson V, Black D, Adachi J, Shea B, Tugwell P, Guyatt G. Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. II. Meta-analysis of alendronate for the treatment of postmenopausal women. *Endocr Rev* 2002; 23(4): 508-516.
21. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson-Hughes B, Fracture prevention with vitamin D supplementation:

- ameta-analysis of randomized controlled trials. *Jama*, 2005; 293(18): 2257-2264.
22. 丁桂芝, 李榕. 從骨礦含量變化規律看腎主骨理論的科學性. 1991; 13(2): 27.
 23. 許書亮, 張永保. 骨質疏鬆症中醫證型的初步臨床報告. *中醫正骨*, 1995; 3(4): 30-31.
 24. 張賢, 蔡建平. 單味中藥防治骨質疏鬆症的實驗研究進展. *時珍國醫國藥*, 2008; 19(7): 1701-1702.
 25. 高明, 華元, 穆敬平. 針灸治療骨質疏鬆症的現狀與思考. *上海針灸雜誌*, 2007; 26(2): 40-42.
 26. Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ. FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone*, 1995; 17: 125S-133S.
 27. Turner RT, Maran A, Lotinun S, Hefferan T, Evans GL, Zhang M, Sibonga JD. Animal models for osteoporosis. *Rev Endocr Metab Disord*, 2001; 2(1): 117-127.
 28. 賈經漢, 邱新建, 陳志堅. 骨質疏鬆動物模型的研究進展. *中國康復醫學雜誌*, 2007; 22(8): 765-768.
 29. Horton JA, Murray GM, Spadaro JA, Margulies BS, Allen MJ, Damron TA. Precision and accuracy of DXA and pQCT for densitometry of the rat femur. *J Clin Densitom*, 2003; 6(4): 381-390.
 30. 李忠仁. 實驗針灸學:附錄一常用實驗動物針灸穴位. 中國中醫藥出版社. 2007; pp. 257.
 31. 楊文達, 林昭庚, 劉旭然. 以醋酸扭體實驗在小鼠觀察不同針尖規格之鎮痛

- 效果. *J Chin Med*, 2003; 14(1): 69-74.
32. 衛生署：衛生統計重要指標。 <http://www.doh.gov.tw/statistics/index.htm>。引用 2008/1/2。
33. 衛生署企劃處：2020 健康國民白皮書。 <http://www.doh.gov.tw>。引用 2008/1/2。
34. WHO. Chronic diseases and health promotion. Available at: <http://www.who.int/chp/topics>. Accessed January 2, 2008.
35. Seibel MJ, Eastell R, Gundberg CM. Biochemical markers of bone metabolism. In: Principles of Bone Biology (Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, eds). 2nd edn. San Diego: Academic Press, 2002; pp1543-71



英文摘要

In normal bone, there is constant matrix remodeling of bone; up to 10% of all bone mass may be undergoing remodeling at any point in time. Bone is resorbed by osteoclast cells, after which new bone is deposited by osteoblast cells. Mechanical or electrical stimuli can influence bone formation and resorption in vitro and in vivo, suggesting that these modalities can be used clinically to inhibit or reverse osteopenia.

Considering the high incidence of pharmacological treatments, electroacupuncture treatment with best cost benefit rates for osteoporosis were investigated in this study. Eighteen 6-week old SD female rats (BioLASCO Taiwan Co., Ltd.) weighing 180–220 g were used in this study. The rats were randomly divided into three groups, a control group (n=6), a model group (n=6) and an electroacupuncture(EA) group (n=6). The rats in Model group and EA group were received ovariectomy operation while the rats in control group received sham operation. The rats in EA group were then given EA on ST36 and SP6 bilaterally, fifteen mins per day, five days per week during four weeks (total twenty times), under

isoflurane anesthesia (in flow of oxygen and nitrous oxide mixture; 3% for induction and 1.5% for maintenance). The positive electrode was connected to ST36, and the negative electrode to SP6. Electrical stimulation were provided by a pulse stimulator (Trio 300, Ito Co., Japan), which produced a biphasic square wave with the following characteristics: 2 Hz frequency, 1-2 mA duration pulses. The current intensity were adjusted until localized muscle contractions were observed. In this study, EA increased the bone volume of secondary spongiosa in tibia. EA on ST36 and SP6 could prevent ovariectomized (OVX) rats' tibia from osteopenia change and increased serum level of alkaline phosphatase (ALP). The EA also avoided the body weight gain of rats in EA group compared to Model group. Taken together, our results might provide the evidence that EA can enhance bone formation by elevate serum ALP level in OVX rats.

Index Words: electroacupuncture, osteoporosis, ALP, bone formation

謝 辭

兩年的碩士班研究生涯，終於要告一個段落了，首先感謝我的兩位指導教授-馮逸卿老師及李德茂老師，兩位恩師悉心的教導使我得以一窺學問的深奧，並不時的討論、指點我學習正確的方向，使我在這些年中收穫甚多。老師對學問的嚴謹更是我輩學習的典範。

本論文的完成亦得感謝本校醫學院藥理學科湯智昕博士協助指導實驗研究方法，及口試委員中山醫學大學楊順發教授對我論文的批評與指教。因為有你們的體諒及幫忙，使得本論文能夠更完整而嚴謹。

另外要感謝針灸研究所劉旭然先生提供我就讀研究所其間的種種協助以及動物麻醉方式的建議；實驗室研究團隊梁鈞雅小姐、劉軒誌先生及洪雅慧小姐不厭其煩的協助及提供我實驗的技巧；此外，也特別要感謝和我同一實驗室並共同就讀針灸研究所的吳建林醫師，恭喜我們終於順利走過這兩年。

最後，家人無怨無悔的支持是我就讀研究所最大的動力，謹以此文獻給我摯愛的雙親。

研究生 吳啟銘 謹識

於中國醫藥大學 針灸研究所

98年6月