

中華民國第 52 屆中小學科學展覽會  
作品說明書

---

高中組 生物（生命科學）科

第三名

040715

你嚼對了嗎？

— 檳榔鹼對神經再生之應用與影響

學校名稱：臺中市私立曉明女子高級中學

作者： 高一 陳儀靜 高一 石瑾旋 高一 呂梓瑜	指導老師： 李志宏
-----------------------------------	--------------

關鍵詞：檳榔鹼、神經系統、再生神經

## 摘要

在此實驗中，我們以大鼠作為實驗對象來探討檳榔鹼對神經系統的影響。首先，我們將大鼠麻醉以利實驗進行。待大鼠昏迷之後，將其臀部及大腿的毛去除，劃開皮膚及肌肉後，將坐骨神經截斷，再以矽膠管連接兩神經斷端，隨即以顯微注射管將檳榔鹼打入矽膠管腔中。之後將傷口縫合，把大鼠置放在籠子裡等待甦醒，進行觀察。實驗後發現，檳榔鹼明顯增加了神經再生的成功率，並可促進再生神經顯微結構的成熟。此結果說明了檳榔的成份並非全然只有壞處，希望未來可以善加利用檳榔於醫藥衛生工作中，以造福神經受傷的病患。

關鍵詞：檳榔鹼、神經系統、神經再生

## 壹、研究動機

檳榔與口腔癌、咽喉癌及食道癌等的關聯性幾乎已被確定，於是政府曾企圖透過立法來達到抑制檳榔消費的效果。然而，檳榔產業的發展涉及經濟、社會、文化、環保、健康與生態等各個層面，這使得任何與其相關的政策或制度的變革都更為複雜與困難。其實，行政院早在民國 86 年已實施「檳榔問題管理方案」，其中雖曾論及「將檳榔業納入公司、行號依法加強管理，並予課稅」，但迄今卻仍然成效不彰。台北市政府更曾於民國 89 年提出「台北市檳榔衛生管理自治條例」，為全國首創的檳榔管理法律。可惜該法在議會審議中，引起極大的爭議，終至被議會要求撤回而功敗垂成。由此可見，檳榔問題解決的不易與棘手。

既然檳榔已經成為台灣一種獨特的本土文化，檳榔產業不論從種植面積、產量或產值而言，早已經成為台灣一項重要的農業經濟作物，以此為生計的就業人口，更是為數眾多。本研究團隊遂提出一個構想，如果能善用檳榔，發掘出它在醫學研究上的價值，像檳榔的成份如果能對受損傷之神經組織產生促進其生長的效果，或許可提升檳榔的產業價值，進而促使政府重視檳榔產業的管理，也不失為兩全其美的方法。

## 貳、研究目的

台灣人常以新鮮的檳榔果實（菁仔）配上荖藤、荖葉、白灰、紅灰一起嚼食，初次嘗試檳榔的人，會有強烈的反應，例如：噁心、頭暈、眩暈或身體發熱等感覺。其配料中，除荖葉可能不具致癌性外，其他配料如荖花及荖藤，則皆含有致癌性化學物質。另因石灰在口腔中易形成高鹼性的環境，會使口腔黏膜的表皮細胞被破壞，導致表皮細胞發生增生及變異現象，進而產生口腔癌。而檳榔果亦含有多種成份，其中「檳榔素」和「檳榔鹼」這兩種成分經國內外研究結果顯示，具均有潛在的致癌性。

列了這麼多檳榔的壞處，難道它在醫學的應用上一點好處都沒有嗎？其實檳榔原是中國重要藥用植物之一，明朝李時珍所著《本草綱目》有記載如下：「嶺南人以檳榔代茶禦瘴，其功有四。一曰：醒能使之醉，蓋食之久，則薰然頰赤，若飲酒然，蘇東坡所謂紅潮登頰醉檳榔也。二曰：醉能使之醒。蓋酒後嚼之，則寬氣下痰，餘醒頓解，朱晦庵所謂檳榔收得為去痰也。三曰：飢能使之飽。蓋空腹食之，則充然氣盛如飽，飽後食之，則飲食快然易消」。除此之外，檳榔的果實中含有 11-26% 的丹寧，而由丹寧所發出的澀味可有止瀉的作用。所含的植物鹼 Arecoline 具有刺激性，使消化器官發生反射作用，瞳孔收縮，心跳減慢。Arecoline 也被證實具有促進動物記憶能力的功效。另一種成份是 Arecoline hydrobromide 是利尿劑，則有驅除腸內寄生蟲的效果。

由上列的文獻中顯示，檳榔的成份無論在瞳孔、心跳或記憶能力方面的作用應當都與神經系統有關。因此在此次研究中，本組企圖探討檳榔與神經系統之間的交互作用關係，利用矽膠管來修補截斷的大鼠坐骨神經，同時在矽膠管腔內注入檳榔之主成份「檳榔鹼」，藉以觀察其對動物神經生長過程中的影響並進行評估。

## 一、周圍神經系統 (peripheral nervous system, PNS)

周圍神經系統包含了自主神經系統 (automatic nerve system, ANS)，為中樞神經系統與身體內在和外在環境間的介面。除了以腦膜作為中樞神經系統與周圍神經系統的分界外，兩個系統在功能上的分界點是在寡樹突細胞與史旺氏 (Schwann) 細胞的交界處。在周圍神經系統中，神經細胞體聚集的結構稱為神經結 (ganglia)；位於神經結的神經元的軸突與來自中樞神經系統神經元的軸突形成周圍神經，依據周圍神經與中樞神經系統的相關部位，可將它分為腦神經與脊髓神經。史旺氏細胞是周圍神經系統的支持細胞，不同於中樞神經系統的神經膠細胞有多種型式，周圍神經的支持細胞僅此一種，而史旺細胞也不會在中樞神經系統內出現。周圍神經系統有二個要素：第一，感覺要素：由感覺受器與輸入 (感覺) 神經元構成；第二，運動要素：由輸出 (運動) 神經命令肌肉或腺體活動，運動要素包含了體運動神經纖維、自主神經節及自主運動神經。

## 二、神經纖維

周圍神經是由腦神經和脊神經所組成每個周圍神經含有神經纖維的平行束 (圖 2.1)。神經束 (fascicle) 在神經幹內，每束神經纖維被圍神經膜 (perineurium) 包圍，在每個神經纖維之間的是鬆散的結締組織稱為神經內膜 (endoneurium)，而整個神經幹則被神經外膜 (epineurium) 的緻密結締組織所包圍。結締組織是用來支持神經纖維和與其相關的血管及淋巴管。神經幹內有特有的微循環系統，它負責供應神經纖維所需的能量。神經幹則是一個混合的組織，它構成的目的是維持神經纖維的連續性，以及營養及保護神經纖維的基本功能。

在周圍神經系統的神經纖維，又可依髓鞘的有無而分成兩類型，即有髓鞘神經纖維和無

髓鞘神經纖維。有髓鞘神經纖維，是神經纖維被髓鞘所包圍，髓鞘不是神經元的一部份，而是由支持細胞所形成，在周圍神經系統中，支持的細胞為史旺氏細胞。軸突的髓鞘化是節段的，由蘭氏結（Ranvier node）有規則地間隔成不連續狀。在周圍神經系統中，每一神經纖維節只由一個史旺氏細胞包圍。無髓鞘神經纖維，其軸突浸入史旺氏細胞的表面，如陷在凹陷內一般，多個軸突可能共用一個史旺氏細胞。

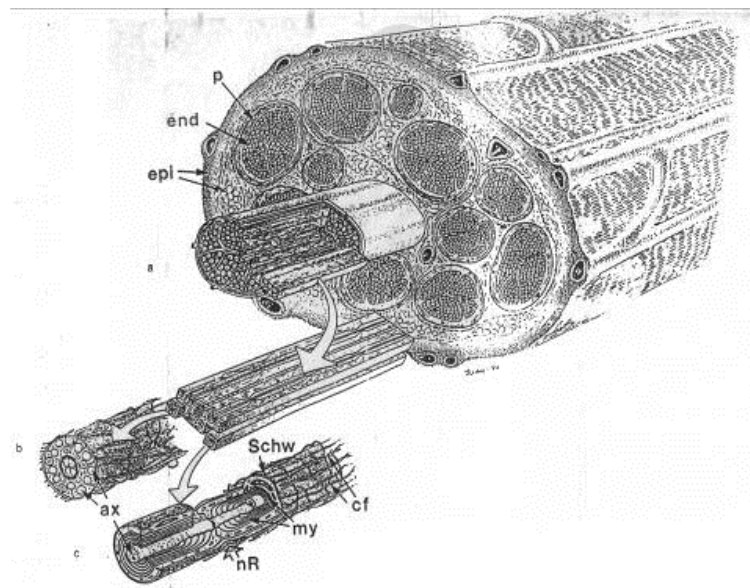


圖 2.1 神經幹結構圖。圍神經膜(p)；神經內膜(end)；神經外膜(epi)；神經軸突(ax)；髓鞘(my)；史旺氏細胞(Schw)；蘭氏結(nR)

### 三、檳榔鹼

檳榔鹼（Arecoline），是一種副交感神經作用藥劑（圖 2.2），在一般劑量有催涎及發汗的作用，高劑量則會作用在肌肉及中樞神經。檳榔素在肝臟中會被轉變成檳榔啖（Arecaidine），檳榔啖沒有副交感神經劑的效果。一般劑量對動物的行動無影響，但高劑量則有鎮靜的效果。

一般在嚼檳榔時，其所含的檳榔素只有小部分被吸收，其他大部分都在石灰存在下，在口腔中轉變成檳榔啞。

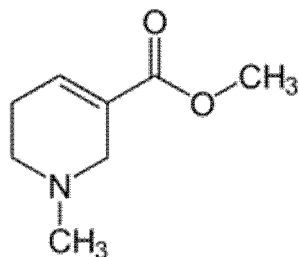


圖 2.2 檳榔啞之化學式

#### 四、神經管接合技術

是將神經兩斷端置於一利用生醫材料製成之圓管的兩端，並利用此圓管來導引及支持再生神經纖維成長（圖 2.3）。它亦適用於較長的神經間隙損傷，當移植神經的取得有困難時，亦可考慮此方法，同時此法並不會導致其他部位功能缺損之缺點。

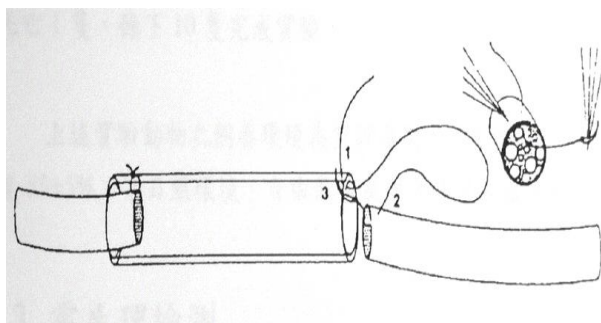


圖 2.3 神經管接合技術之圖示

## 參、研究設備及器材

### 一、矽膠管

實驗用之矽膠管內徑為 1.47 mm，外徑 1.96 mm，購自 Helix Medical, Inc, USA。

### 二、檳榔鹼

購自 Sigma-Aldrich (產品編號：10980), St. Louis, MO, USA。

### 三、大鼠

雌性 Sprague-Dawley (SD) 大白鼠 20 隻，重量為 280-350 g，周齡為十二週，購自國家實驗動物中心。大鼠飼養於中國醫藥大學動物中心之 24 小時空調房間，溫度調控於  $22 \pm 3$  °C，一隻大鼠使用一個籠子，相對溼度為  $55 \pm 5\%$ ，半日照環境，自由飲水及餵養標準大鼠實驗飼料（福壽公司，台灣）。

### 四、顯微手術器材

9-0 Nylon 縫線 用於將斷傷神經固定於神經導管，購自 Mani Z010064000 (Japan)。

Catgut chrome 縫線 用於縫合大鼠肌肉及皮膚，購自 B. Braun (Germany)。

### 五、消毒

實驗所用的 Betadine® Antiseptic Solution 購自 Mundipharma (Germany)，用於實驗過程動物及器械消毒。

### 六、氣體麻醉劑

麻醉劑為 AErrane® (Isoflurane) 購自 (Baxter, USA)，用於手術過程中減低動物痛苦。手術前將大鼠置於透明麻醉箱中，利用氣體麻醉機 (Forawick Vaporizer, Muraco Medical Co., Japan) 進行麻醉。



## 肆、研究過程或方法

### 一、 製備矽膠神經管

於無菌操作台上操作，共準備 20 根矽膠管使用。首先將矽膠管裁成 12 mm 長，前後各預留 1 mm 用於縫入神經斷端，使兩神經斷端之實際間距長度為 10 mm。再將矽膠管浸泡於 75%酒精中消毒後，取出置於無菌培養皿中，再置於烘乾箱中烘乾，保存備用。

### 二、 動物分組與麻醉

將 20 隻雌性 SD 大白鼠隨機分為 2 組，分別為生理食鹽水 (Normal saline, NS) 組及檳榔鹼 (Arecoline, AC) 組，每組各有 10 隻 SD 大鼠。手術前須先將大鼠麻醉，將大鼠置於透明麻醉箱中，利用氣體麻醉機麻醉。確定大鼠麻醉完全後，將大鼠自透明麻醉箱中取出，利用塑膠管輸送麻醉劑，此時麻醉劑量改為 2 litter/kg · min，且將此塑膠管套於大鼠口鼻中，持續給於麻醉。

### 三、 坐骨神經神經管接合手術 (圖 4.1)

將大鼠擺以右側躺及右膝蓋彎曲，以股骨頭 (femur) 的位置為中心，上下各約 3 cm，將大鼠臀部及大腿的毛剔除，剃毛區以 Betadine® (Mundipharma, Germany) 自中心開始由內向外消毒。大鼠消毒完成後，先以拇指及食指找到大鼠右側之股骨頭上之大轉子 (greater trochanter of femur) 及外側豆狀骨 (lateral fabella) 予以定位，並用 15 號皮刀沿此兩點之連線劃開皮膚，鈍性分離股二頭肌 (biceps femoris muscle) 與筋膜，游離出長約 2.5 cm 坐骨神經，於梨狀肌 (pirifemoris) 下緣 8 mm，用剪刀整齊剪斷坐骨神經幹，並取出已滅菌之神經

導管，以 9-0 Nylon (Mani, Japan) 縫線於神經導管之外側 1 mm 處穿入，然後穿過斷端之神經外膜，最後自神經導管之內側穿出，神經斷端藉著少許張力順勢帶入神經導管內，並在神經導管內之外側打結固定。接下來縫合另一斷端距外側 1 mm 處，兩斷端神經經固定後，如此便可製造 10 mm 間距。此時再利用顯微注射管穿過管壁在矽膠神經管內注滿不同的試劑，分別為：A 組 NS 對照組；B 組 AC 實驗組，濃度為 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，各組樣本數  $n=10$ 。神經與神經導管縫合完畢後，將麻醉劑之流量改為 1 liter/kg · min，並以 4-0 Catgut chrome (Unik, Taiwan) 縫合肌肉，最後以 3-0 silk (Unik, Taiwan) 將皮膚縫合。手術完畢後，測量大鼠體重，並將大鼠置回籠子，照光維持體溫，等待動物甦醒。再以抗生素 Pamoxicillin® (內含 Amoxicillin trichydrate 1.5 gm/60 ml) 1 g 溶解於 100 ml 逆滲透水中，當作 3 天份之飲水量給予自由飲水，以預防傷口感染。

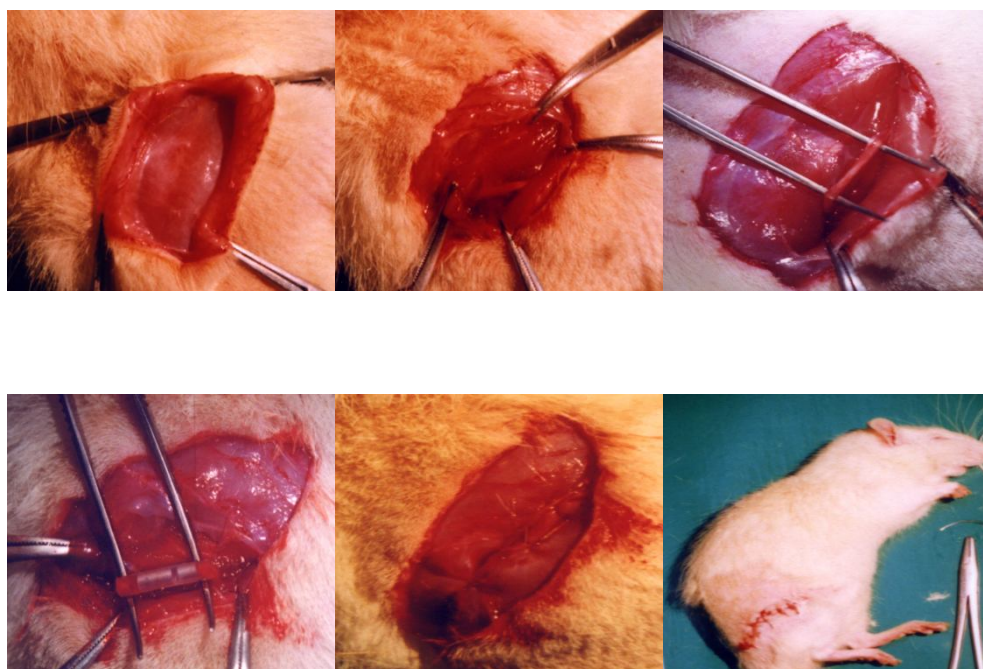


圖 4.1 神經管接合坐骨神經手術過程

#### 四、 觀察期

觀察大鼠的飲食、大小便、傷口、皮膚、毛色變化、行動、體重變化、足趾與足跟等，並予以紀錄，飼養觀察時間維續 1 個月。犧牲前先將大鼠麻醉、剃毛、Betadine®消毒後，定位出大鼠右側之股骨頭上大轉子及外側豆狀骨，沿此兩點之連線用刀片劃開皮膚，鈍性分離股二頭肌與筋膜，以肉眼觀察神經在導管內生長情形，縫線是否脫落，只要神經導管內有神經組織長過便定義為生長成功，將此成功率予以紀錄。

#### 五、 神經切片評估

大鼠犧牲後，將神經導管內再生的神經組織連同神經導管取下，浸泡於 2.5% glutaraldehyde 水溶液一週，取出內有再生神經組織之神經導管，將其分為三等分，利用刀片分別去除前後三分之一，留下中間三分之一的部份置於 2.5% glutaraldehyde 水溶液中，再將再生神經組織以含 2.5% glutaraldehyde、4% paraformaldehyde 及 0.1 M cacodehyde 混合液固定 1-2 日，隨即將神經以 1% OsO<sub>4</sub> 後固定約 2 小時，之後以 50~95% 酒精脫水，再以樹脂包埋，並將含再生神經組織之樹脂置入 60~70 °C 烤箱中約 16 小時，等待樹脂硬化。隨後將包埋之再生神經組織作橫向 1  $\mu$ m 切片後，以 Toluidine blue 染色後於光學顯微鏡下作觀察。

## 伍、研究結果

### 一、大鼠外觀

大鼠於手術前後，直到被犧牲前，本組做了多項的觀察紀錄，包括毛色、傷口、重量變化、足趾缺損等。神經截斷後，原本大鼠白色有光澤的毛髮，隨著時間的增長，逐漸變成淡黃色，且較無光澤，尤其是傷口周圍的毛色較無光澤，但並無脫落情況。雖然術後連續口服三日抗生素治療，然各組動物傷口於術後有綠色感染出現，一星期後逐漸消失。皮膚縫線完整，直到犧牲前傷口癒合情況表面完整，且毛髮長出情況良好。各組大鼠的重量皆增加，但組間重量變化差異並不大。神經截斷後，大鼠就有自殘的現象發生，咬傷截斷神經側的足趾，造成出血與傷口，進一步造成足趾的斷裂與變形（圖 5.1）。

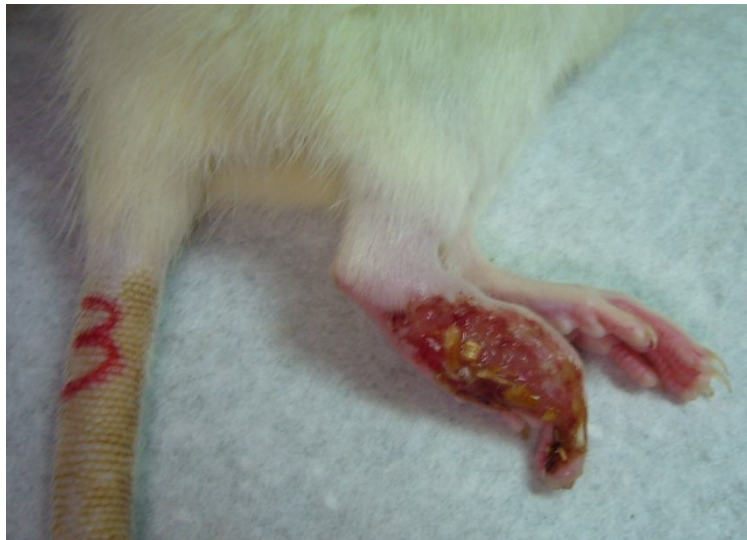


圖 5.1 大鼠於神經截斷肢產生自殘的現象

### 二、矽膠管內神經再生情況

神經管接合手術一個月後，再次手術觀察矽膠管內神經再生的情形。大鼠之麻醉及手術

方法如前，使之前植入大鼠之神經矽膠管暴露。結果發現神經管外包裹著增生的透明纖維組織。利用手術刀將前述之纖維組織切離後，透過半透明的矽膠管壁觀察管內神經再生情況。管內若有神經組織長過，便算是再生成功（圖 5.2），若無則代表再生失敗，藉此紀錄神經生長的成功率（圖 5.3）。結果發現 B 組 AC 實驗組神經生長的成功率達 60%，遠高於 A 組 NS 對照組之 30%。

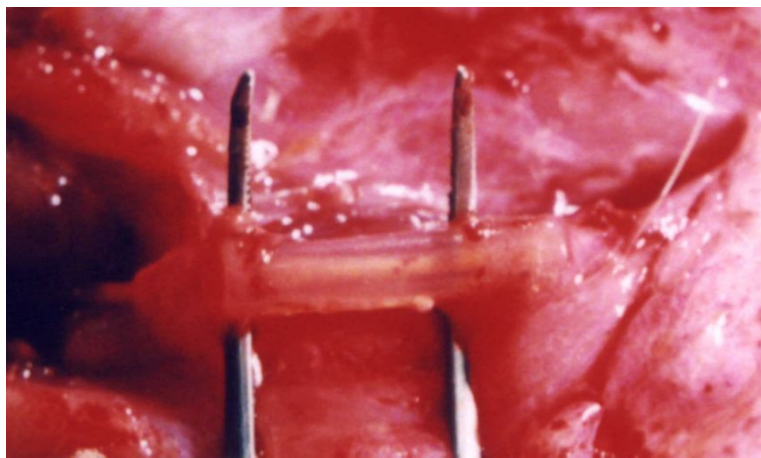


圖 5.2 神經再生成功

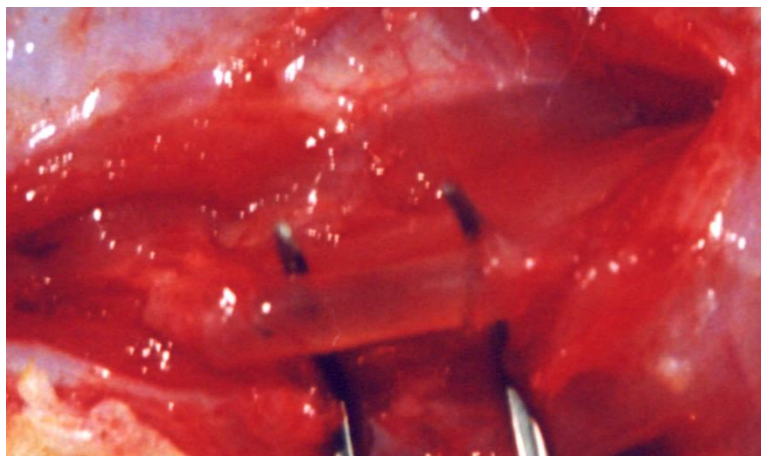


圖 5.3 神經再生失敗

### 三、矽膠管內再生神經切片觀察

矽膠管內之再生神經內，其切片觀察大都已形成許多髓鞘化的軸突。除此之外，血管、神經外膜、圍神經膜與神經內膜等結構均亦已形成。但當比較兩組之再生神經結構時可明顯的看出，B 組 AC 實驗組（圖 5.5）無論在軸突數目及其密度均高於 A 組 NS 對照組（圖 5.6）。

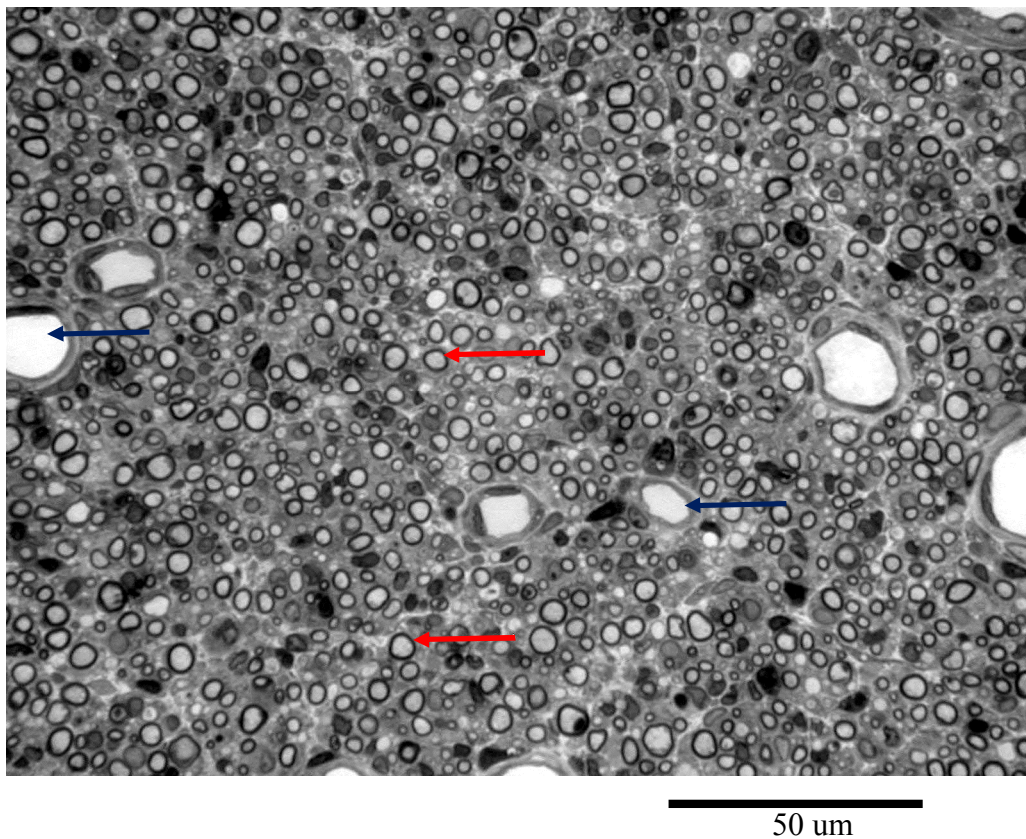


圖 5.5 B 組 AC 實驗組之再生神經顯微切片圖。軸突(紅箭頭)；血管(藍箭頭)

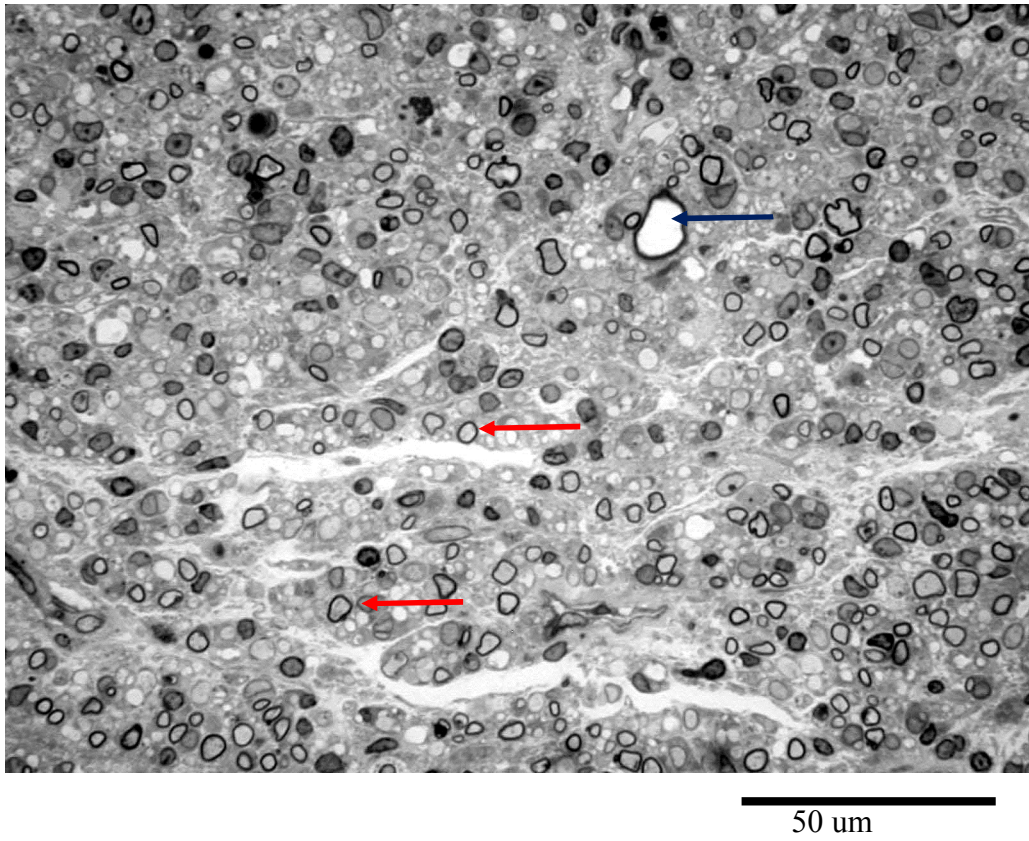


圖 5.6 A 組 NS 對照組之再生神經顯微切片圖。軸突(紅箭頭)；血管(藍箭頭)

## 陸、討論

神經損傷的個案在目前多變的日常生活中十分常見，神經受到損傷的名人更是不計其數，其中又以主演超人電影系列的克理斯多福李維(Christopher Reeve)的意外事件最受世人注意。克理斯多福李維在好萊塢眾多明星中的好人緣及好丈夫形象是頗受稱道的，但很不幸的在一次慈善義演中，他自馬背上摔下，同樣的也傷及脊椎神經而導致下半身癱瘓。不過他不僅在電影中是位超人，在現實生活中其不屈不撓對抗復健痛苦的精神更是令人敬佩。記得在該不幸事件發生後的一次公開記者會中，他曾大聲誓言在幾年內他一定要靠自己的力量再站起來。雖然他重新站起的願望到他過逝都沒達成，但是他的這番誓言以目前生醫科技的進展速度來看，在可見的未來是非常有可能達成的。

神經損傷後，若沒有經過適當的處理，極易導致神經瘤的產生。而神經瘤的產生往往使得受損神經無法重整恢復。為了避免神經瘤的發生及協助受損神經的再生，近年已發展出不同的神經修補技術。在我們此次的神經再生實驗中，利用了神經管接合術來接合截斷的大鼠坐骨神經。神經管的使用可排除許多影響神經再生的外在大因素，使得研究者可以較單純地探討神經斷傷後的變化，而各類的研究都以增進神經再生為主要的研究方向。

### 一、神經管材料之選擇

許多生物及人工合成的生醫材料已經被研發製成神經管，而理想的神經管必須具備下列之特性：

- (一)良好的生物適應性
- (二)薄且具彈性
- (三)透明



(四)可抑制纖維細胞和結締組織在受傷神經周圍的增生

(五)能促進神經復原和再生

本研究中所使用的矽膠管即被製造成神經管中最被接受的材料之一，不僅是因它的穩定性極佳，更因它具有以下的特性：

(一)矽膠是不可通透的，它能提供再生神經單純生長的環境。因此唯一能影響神經再生的生化因子即是管內的細胞、液體、和促進神經生長的物質。

(二)矽膠管提供了良好的架橋，使再生的神經纖維能朝神經遠斷端的方向生長。

(三)由於矽膠的不可吸收性，使矽膠管能提供再生神經連續的支持力。

## 二、如何刺激神經再生

神經斷傷後，神經兩斷端的間距愈大，神經再生就愈困難。在神經管的實驗中，單純使用神經管，則大鼠完整的再生軸突可以通過 10 mm 的間距，這個間距許多學者稱之為關鍵性的間距 (critical gap length)。一旦神經兩斷端的間距超過此間距，再生的軸突就很難通過神經管，但是加入其他影響神經再生的因素後，此情況可改變。例如，在神經管中添加刺激神經再生的物質，便會使再生之周邊神經在較短的時間內跨過間距，而到達遠斷端。例如本研究中加入矽膠神經管內之檳榔鹼，我們發現它除了可以明顯增加神經生長的成功率，同時也可促進再生神經顯微結構的成熟，這個發現說明了檳榔鹼或許可作為刺激神經再生用途之藥物，也完成了本研究「發掘檳榔於醫學研究及產業上的價值」的原始動機。

## 柒、結論

根據衛生署之統計分析，臺灣地區光中樞神經損傷之病患就有二萬多人，每年並以一千多人的速度增加，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。這些神經損傷患者中，多數十分年輕，於是造成了許多家庭的悲劇。而且為了照顧這些患者所需耗費的社會成本，更是難以估計。我們透過此次的研究已初步的學習到如何利用生醫材料及本土的植物用藥來促進神經的生長，更希望藉由此研究能進一步的發展臨床上對治療神經損傷更佳的方法，以造福患者。

## 捌、參考資料

1. 吳俊賢：內填人參皂 Rb1 與神經生長因子混合物之矽膠管對截斷大鼠坐骨神經再生的影響。中國醫藥學院，碩士論文，台中 1999.
2. 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，碩士論文，台中，1998.
3. 陳悅生：想換條新的神經嗎？——神經再生。科學發展，356 期，26-29 頁，2002.
4. Lu MC, Yao CH, Wang SH, et al. Effect of Astragalus membranaceus in rats on peripheral nerve regeneration: in vitro and in vivo studies. *J Trauma*. 2010;68:434-440.
5. Yannas IV, Hill BJ. Selection of biomaterials for peripheral nerve regeneration using data from the nerve chamber model. *Biomaterials*. 2004;25:1593-1600.
6. Williams LR, Longo FM, Powell HC, et al. Spatial-temporal progress of peripheral nerve regeneration within a silicone chamber: parameters for a bioassay. *J Comp Neurol*. 1983;218:460-470.

## 【評語】 040715

1. 此作品欲探討檳榔鹼對大鼠坐骨神經再生的影響，其研究對神經再生醫學可能具有應用性，立意甚佳。
2. 其結果雖顯示檳榔鹼對神經再生有正面的影響，然而其已被證實具有潛在致癌性，需多留意該成分的使用安全性或以其它植物鹼代替。
3. 建議使用細胞株或組織切片進行實驗較佳，例如測量該物質對細胞生長或移動等相關因子表現的影響。