

# 台灣二〇〇五年國際科學展覽會

科 別：醫學與健康科學

作品名稱：揭開變化球的神秘面紗 ---

探討丘腦至前額葉的路徑連結

學 校：國立臺中第一高級中學

作 者：張孔博

### 作者簡介

我叫做張孔博，研究一直是我從小到大的興趣，而大腦是如何運作是我心中最大的疑惑。為了解開這團謎，我參加了生命科學資優生培育計畫，抱著好奇與學習的心進入科學的殿堂。其中感謝教授不辭辛勤的指導，以及學長學姐的熱心建議，除了讓我增進神經方面的知識外，更深切體驗到一個實驗嚴謹的完整流程以及對生命尊重的意義，真慶幸有這樣一個難得且寶貴的學習經驗。

## Abstract

During the evolution of humankind, development of frontal cortex has played a critical role, where higher brain function like emotions, self-consciousness, decisions...etc, were all related to frontal cortex. On the other hand, thalamus is usually associated with relaying the sensory signals from peripheral receptors. In order to understand the functional role of frontal cortex, the signal processing mechanisms in the thalamo-frontal cortical pathway became an important research issue. The aim of this experiment was to find a method to dissect a brain slice that contains a connecting route *in vitro* between thalamus and frontal cortex with functional activity. Through nerve fibers tracking technique using fluorescent-dye (**DiI**), it was understood that the 3D-space connection between thalamus and frontal surface was an upward curve with a turn of about 110 degrees and bending inwards from the two sides. If a conventional horizontal section was performed, the route would be cut-off and its integrity lost regardless of the direction. To solve this problem, a novel section method was developed to retain the route. Based on the route direction shown by the fluorescent-dye, a piece of brain block was cut and flattened of about 110 degrees. Other sections were performed as control for studying the effectiveness of the sectioning on the plane of the route. Finally, electrophysiological methods were used to verify the connection route was complete and functional. Thalamus-evoked extracellular field potentials in the frontal cortex were observed by changing stimulation strength, adjusting slice temperature and prepared oxygen supply and administration of drugs like **CNQX** and **picrotoxin** in the 110 degree flattened slice but not the others. It was found that the reaction was essentially a neuronal response, indicating the pathway between thalamus and frontal surface was retained substantially. With this novel brain slice technique, we can assess the functional connection between thalamus and frontal cortex and investigate the cellular mechanisms of the signal processing in this connection pathway. It is anticipated that present technique provides an important step to further elucidate the functional role of the frontal cortex.

## 摘要

在人類的演化史上，前額葉的發展扮演了極為重要的角色，凡舉情緒、自我意識、決策等，皆與前額葉有關。而丘腦通常與視覺、聽覺及本體感受如痛覺、觸覺、溫度覺的訊息傳遞有關。要了解前額葉的功能，丘腦到前額葉的徑路及訊息處理機制，便成爲一個很重要的研究課題。本實驗的目的是尋找一個方法能在離體的腦切片上維持具有丘腦到前額葉連結的徑路並且有功能的活性。經由螢光染料(DiI)神經束追蹤技術，了解從丘腦至前額葉路徑的三度空間連結爲一先向下再向上約 110 度的角度轉折，並同時先由內向外再轉向內的曲線，若用一般水平之切片方法，無論何種方向，其路徑必定會被切斷，不能保持其完整性。爲了解決此問題，發展出一種可以保存其路徑的腦切片方法。依照螢光染料所顯示出的路徑走向，在腦塊的皮質上切一刻痕，將腦塊以 110 度的角度展平，使其路徑處在一個平面上再切片。最後利用電生理的方法來證明所切出的連結路徑是完整且具有活性。改變在丘腦的刺激強度、調整腦切片(腦脊髓液)溫度、氧氣的供給以及施予藥物 **CNQX**、**picrotoxin**，觀察其前額葉之電位變化，發現其反應確實爲神經反應，表示從丘腦至前額葉的路徑已在這種特殊的腦切片中被完整保存。藉由這個方法，將有助於研究丘腦至前額葉功能性連結，神經網路結構，及其訊息處理機制，並期待以這樣一個全新的方法將來有助於瞭解前額葉的功能。

## 揭開變化球的神秘面紗

### —探討丘腦至前額葉的路徑連結

#### 壹、研究動機:

國中時，老師讓我們看了一部敘說一個因迴路異變而有感情、有思想的機器人想變成人的電影--“變人”。令我震撼不已，感動之餘立志要創造出如此具有獨立思考，有感情的機器人。而後，我又在漫畫“五星物語”上看到了人們懼怕人工生命體的能力遠遠超越人類，進而加諸他們許多殘酷的束縛，更加深了我要打破這些不合理迷思的決心。然在苦思的過程中，這主宰感情、思考之神—大腦，是如何調兵遣將運籌自如？一直是我心中最大的疑惑，而那神的百萬雄師—神經元又是如何彼此牽動聯結？為了解開這團謎，參加了生命科學資優生培育計畫，抱著好奇與學習的心進入科學的殿堂。在人類的演化史上，前額葉的發展扮演極重要的角色，其功能涵蓋情緒、自我意識、決策等。而丘腦通常與痛覺、觸覺、溫度覺的感受訊息傳遞有關。研究腦功能的科學方法有神經功能影像、電生理、神經藥理等。為要了解研究神經訊息傳遞的機制，用電生理的技術研究腦切片的電位訊號是一種很重要的方法。但在目前，腦切片的研究有關於丘腦至體感覺皮質腦區、視覺皮質腦區、聽覺皮質腦區的連結，但卻沒有關於包含丘腦至前額葉腦區連結的腦切片方法之研究。所以，我非常有興趣並著手進行這方面的研究。

#### 貳、研究目的:

探討丘腦到前額葉的投射路徑並且尋找方法切出含有丘腦至前額葉連結路徑的腦切片外，並用電生理的方式驗證在離體的情況下其路徑及其所投射的前額葉腦區仍具有活性。

## 參、研究方法:

### 一、 實驗動物

本實驗研究動物為 B6 小鼠，體重 30~40 公克重，雄性，共使用 20 隻，皆向國科會國家動物繁殖中心購買。本實驗操作符合動物實驗作業規範。將小鼠以深度麻醉，使其無傷害性反射，才進行實驗。

麻醉方式共分 2 種：

1. Chloral hydrate 腹腔注射：將小鼠以 50 mg/Kg 之 Chloral hydrate 以腹腔注射深度麻醉後，捏小鼠之尾巴，確定其對疼痛刺激無反射動作出現，再進行實驗。

2. Halothane 氣態麻醉：將小鼠至於一有蓋容器內，滴入約 0.5ml 之 Halothane，等待小鼠深度麻醉後，捏小鼠之尾巴，確定其對疼痛刺激無反射動作出現，再進行實驗。

### 二、 實驗一： 利用螢光染料 (DiI) 神經徑路追蹤技術以探討丘腦到前額葉路徑在三度空間上的連結

#### 1. 注射螢光染劑到丘腦：

先將小鼠以 Chloral hydrate 麻醉後，把生理食鹽水注入左心室中，並剪斷大靜脈，使血液由切口流出。等待至小鼠腳掌成白色，體內大部分血液都流出後，再注入福馬林，直到小鼠尾部顫抖，將腦取出並浸置福馬林中，一天後將腦對切。加壓於管內填充紅色螢光 DiI 之玻璃微管，依圖譜位置把 DiI 打入丘腦(見圖一 A)，然後用洋菜膠包埋，置於溫室(約 37°C)二個月後切片，用螢光顯微鏡照相。在螢光下，被染色的神經束會發出紅光(見圖一 B)。

#### 2. 建立丘腦到前額葉路徑在三度空間上的連結：

將螢光連續切片上 DiI 所顯示的路徑螢光圖像，依順序重組排列後，利用電腦圖像分析程式(Image J)堆疊成三維立體之圖像，再使用 3D 繪圖軟體(Lightwave 3D)，建構出三維透視模型，以表示其可能之路徑。

### 三、 實驗二： 探討使丘腦到前額葉的路徑保存的切片方法

#### 1. 腦塊製備：

將小鼠以 Halothane 麻醉，將腦取出並置於 0°C 且有混合氣(95%氧氣 5%二氧化碳)供給之人工腦脊髓液(以下簡稱 ACSF)五分鐘，使其微微變硬，切去

小腦，再從中間往兩旁延伸約全腦寬之四分之一處，左右各縱切一刀，其目的在可由側邊看出基底核的神經纖維走向，及其他腦區之相對位置。最後，修平腦塊底部突出部(見圖二)。

## 2. 不同展開角度的腦切片製備：

以不同角度將腦片切出：

(1) 水平：平行由丘腦至前額葉連線，水平橫切後置於組織切片機上連續切出厚度 500 $\mu\text{m}$  之腦片(見圖三 A)。

(2) DiI 角度：將腦塊切出依 DiI 所顯示之神經束所彎曲的角度，置於彎曲之不鏽鋼片上，以快乾膠粘著，在腦皮質上橫切深約 2 毫米之缺口。最後展平不鏽鋼片，置於組織切片機上連續切出厚度 500 $\mu\text{m}$  之腦片(見圖三 B)。

(3) 大角度：將腦塊切出 130 度的角度，置於彎曲之同樣角度不鏽鋼片上，以快乾膠粘著，在腦皮質上橫切深約 2 毫米之缺口。最後展平不鏽鋼片，置於組織切片機上連續切出厚度 500 $\mu\text{m}$  之腦片(見圖三 C)。

最後由切出的數片腦片，取出其中含有丘腦、基底核及前額葉的腦片於室溫有氧氣供給之 ACSF 中。

## 3. 在顯微鏡下觀察不同角度之腦切片：

在顯微鏡下觀察不同展開角度(水平角度、大角度、DiI 角度)腦片的神經束走向，最後再將 DiI 打入 DiI 角度之腦切片中丘腦的位置，數週後置於螢光顯微鏡下觀察。

## 四、 實驗三： 利用電生理的方法證明此連結的功能活性

刺激紀錄線路配置(見圖四)：

刺激裝置：由電腦控制，經數位資料擷取卡輸出一 5 毫伏、波長 1 毫秒之方波至刺激觸發器，再由刺激觸發器輸出所欲之的恆定電流強度的電刺激(波形為先負後正持續 0.5 毫秒之方波)至白金雙極刺激電極。

紀錄裝置：利用玻璃微電極拉製器所拉出之口徑 30 $\mu\text{m}$  且管內填充 ACSF 之玻璃微電極(電阻值為 0.1 ~ 1 M $\Omega$ )紀錄腦切片的誘發電訊，氧化銀之接地電極置於腦切片紀錄槽中，經由放大器放大後，再將訊號送至數位資料截取卡，由電腦顯示結果。

實驗分別由下列數個步驟進行：

### 1. 探討腦切片角度的影響：

分別刺激白質、基底核、丘腦並觀察前額葉的電生理反應，以檢驗三種不同切法產生的腦片之路徑完整性。

確定其中某一切法的腦片具有由丘腦到前額葉的電生理反應後，使用此一腦片進行下列實驗。

2. 探討刺激強度的影響：在不同強度刺激下(50 $\mu$ A、100 $\mu$ A、200 $\mu$ A、300 $\mu$ A、400 $\mu$ A、500 $\mu$ A、600 $\mu$ A、700 $\mu$ A、800 $\mu$ A、900 $\mu$ A、1000 $\mu$ A)，刺激丘腦並觀察其對前額葉之電生理反應的影響。

3. 探討溫度的影響：藉由改變溫水水箱之水溫來改變腦切片環境(ACSF)的溫度(29 $^{\circ}$ C ~ 35 $^{\circ}$ C)，刺激丘腦並觀察其對前額葉之電生理反應的影響。

4. 探討氧氣的影響：改變腦切片環境(ACSF)的涵氧量(打氧/不打氧)，刺激丘腦觀察其對前額葉之電生理反應的影響。

5. 探討藥物的影響：

(1) **CNQX**：將 10 $\mu$ M 的 **CNQX**，溶入 ACSF 中加至腦切片槽中 10 分鐘後紀錄，最後用無 **CNQX** 之 ACSF 沖洗 30 分鐘再紀錄。

(2) **Picrotoxin**：將 10 $\mu$ M 的 **picrotoxin** 溶入 ACSF 加至腦切片槽中 20 分鐘後紀錄，最後用無 **picrotoxin** 之 ACSF 沖洗 10 分鐘再紀錄。

## 五、電刺激產生之誘發電位數值分析

不同因素的影響前後，用 Student's t-test 來檢驗其差異的顯著性，以  $p < 0.05$  作為顯著性差異的標準。

## 肆、器材及實驗藥品材料：

一、腦切片製備：手術器械、組織切片機

二、電生理實驗：數位資料截取卡(PCI-1202)、隔離波刺激器(A-M Systems 2100)、白金雙極刺激電極、可程式放大器(CyberAmp380)、示波器

(PM3350A)、防震台、抽水幫浦、水浴槽、溫度計、玻璃微電極拉製器(Needle/Pipette Puller730)、細微操作儀、個人桌上型電腦、解剖顯微鏡

三、螢光染料(DiI)神經束路追蹤：螢光顯微鏡、細微操作儀、解剖顯微鏡

四、ACSF 成分(每升中含有)



NaCl 7.245g、NaHCO<sub>3</sub> 2.1g、Glucose 1.8g、KCl 2mM、NAH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1mM、  
MgSO<sub>4</sub> 2mM、CaCl<sub>2</sub> 2mM、溶劑:H<sub>2</sub>O、酸鹼校正(PH=7.4)

**五、 化學藥品 DiI、CNQX、picrotoxin 皆向 Sigma 公司購置**

## 伍、 結果與討論：

### 一、 實驗一： 丘腦到前額葉路徑的三度空間連結

由 **DiI** 所染出的神經束連續切片(見圖五)，可看出丘腦到前額葉的路徑先從丘腦向外延伸 1.5mm 並向前發展 2mm 後，向上轉折約為 110 度之夾角(見圖六 D)，依循基底核之神經纖維(見圖六 C)，延伸 2mm 同時由兩旁向中央彎曲 1.5mm 至白質後，作小幅度打折後，到達前額葉(見圖六 B)，平行原本在基底核之路徑，並且繼續向中央彎曲，沿著前額葉之神經纖維，直到腦表面(見圖六 A) 經過重組的立體結構圖像顯示出此完整路徑(見圖七)，為了簡化此路徑的角度方向及空間位置，由立體的卡通圖顯示此一模型(見圖八)。

### 二、 實驗二： 不同的腦切片方法

由上述可知，從丘腦至前額葉的神經連結並不存在於同一平面上，而是呈現一種立體架構。若使用傳統腦切片的方法，無論何種方向角度的切面，皆不能保持其路徑的完整性。所以找出特定角度將腦塊展開再切片，使立體的路徑彎曲在同一平面上，為解決此問題的方法之一。從不同的腦切片展開角度中，可看出若是依平行丘腦至前額葉所連成的直線來切片，在解剖顯微鏡下觀察，基底核及丘腦之神經纖維出現斷口(見圖九 A)。由此可知，依平行丘腦至前額葉所連成的直線來切片，即傳統之切片方法，只能保存一段由前額葉至白質之連結，基底核至前額葉及丘腦至前額葉的路徑皆被截斷。若使用 **DiI** 所顯示的角度(110 度)來展開，所切出的腦切片，在顯微鏡下可明顯看出，自丘腦至基底核、基底核至前額葉的纖維大部分保持完整，見不到斷口(見圖九 B)。若使用大角度(130 度)切法展開，所取出的腦切片在顯微鏡下，基底核到丘腦之間的神經纖維出現斷口(見圖九 C)。最後在 **DiI** 角度的腦切片上，以 **DiI** 追蹤其路徑可明顯見到在螢光下從丘腦到前額葉皆有 **DiI** 存在(見圖十)，顯示出在 **DiI** 角度的腦切片上從丘腦到前額葉的路徑應已完整保存。

### 三、 實驗三： 徑路連結功能活性的電生理驗證

不同展開角度的影響中，在水平角度的腦切片上，只有刺激白質，前額葉才有電生理反應。其餘(基底核、丘腦)皆見不到任何反應(見圖十一 A)。而在 DiI 角度的腦切片上，刺激白質、基底核、丘腦，前額葉皆有反應，顯示出從丘腦至前額葉之路徑被完整保存(見圖十一 B)。最後在大角度的腦切片上唯有刺激白質或基底核，前額葉有電生理反應，顯示出由丘腦到基底核之間的聯結被切斷(見圖十一 C)

爲了進一步確定利用 DiI 角度展開的路徑，刺激丘腦時，於前額葉所記錄到的電位變化爲神經反應，故改變各種環境變因及藥物測試來證明。刺激強度的影響方面，刺激強度越大，負向反應越強，且較慢的負向反應明顯增強 (n=5)(見圖十二)。在溫度的影響方面，發現當環境(ACSF)溫度爲 31° C 時反應強度最大，當升溫 35° C，反應強度持續變小，原本兩個負向反應只剩下一個。且當環境溫度下降時，反應強度並無增加(n= 3)(見圖十三)，表示高溫對此路徑造成不可回復之傷害，推測可能是高溫讓許多神經元死亡之緣故。而氧氣的影響方面，發現在高涵氧量的環境下，較慢的負向反應強度較大，相對的在低涵氧量中，反應強度顯著地減小(n= 4, p< 0.05)(見圖十四)，而較快的負向反應較無顯著的變化。但若又再次提高涵氧量，反應強度將增大，顯示出低涵氧量對此路徑有不良之影響，但並不是不可回復的，推測在缺氧之環境下，神經元代謝功能降低。在藥物的影響方面，加入 **CNQX** 10 分鐘後，較慢的負向的反應顯著變小(n= 6, p< 0.05)，在沖洗 10 分鐘後，較慢的負向反應又回復將近原本的強度(見圖十五)，但是較快的負向反應則不受影響。因爲 **CNQX** 會阻斷 AMPA 和 Kainate 受體，此類受體爲興奮性神經傳遞物質 Glutamate 的主要受體，而負向之反應變小，表示較慢的負向反應應該是由神經突觸所傳導，而非物理性電位變化，但是較快的負向反應的神經傳導機制則有待進一步的研究。最後在 **picrotoxin** 的影響方面，加入 **picrotoxin** 10 分鐘後，較慢的負向的反應變大，在沖洗 10 分鐘後，負向反應又回復將近原本的強度(見圖十六)，但由於本實驗的樣本數不夠多，所以較慢的負向反應變化未達到統計上的顯著性差異。因爲 **picrotoxin** 會阻斷 GABA 的受體，而 GABA 是抑制性神經傳導物質，故負向反應增大，更加可以確定此誘發反應有抑制性的中間神經元作爲調控的機制。

## 陸、結論：

根據 **DiI** 所染出的神經束，顯示丘腦至前額葉的神經聯結並不存在於同一平面上，而是呈現一種向外彎曲先向下再向上彎折的立體架構。為此，本實驗設計了一種特殊的切片取法，將腦用特定角度展開，使其路徑由立體轉成平面再切片。經各種展開角度的嘗試後，在解剖顯微鏡下，唯有依據 **DiI** 所顯示角度(約 110 度)展開所切出的腦切片，自丘腦至基底核、基底核至前額葉的纖維大部分保持完整。且利用電生理的方法來驗證路徑的完整性時，刺激不同位置：白質、基底核、丘腦，也只有 **DiI** 角度所展開所切出的腦切片，三個位置在前額葉胞外紀錄時皆有反應，證明此種切法保存了丘腦至前額葉神經束路的完整性。神經藥理的研究顯示，丘腦到前額葉需要依賴 **Glutamate** 的受體來傳遞，並且很可能受到 **GABA** 間神經元的調控。

本研究的貢獻主要為：設計出一種特殊的切片方法使傳統切片所切不出來的立體神經束路，可經此方法完整保存在同一切片上，使在離體的狀況下，亦可研究立體神經束路之電生理反應。而丘腦至前額葉的神經束連結即為一立體架構，利用此方法在離體的狀況下研究丘腦至前額葉之電生理反應，更是先前研究所未提及的。藉由這個方法，將有助於研究丘腦至前額葉功能性連結，神經網路結構，及其訊息處理機制，並期待已這樣一個全新的方法將來可以幫助瞭解前額葉的功能。

## 柒、參考資料：

- 一、 左明雪 著, 細胞和分子神經生物學 Cellular and molecular neurobiology, 第一版, 台北縣新店市, 藝軒出版社, 2003 年印刷.
- 二、 A. Agmon and B. W. Connors. 1991. Thalamocortical respons of mouse somatosensory (barrel) cortex in vitro. Neuroscience , 41: 365-379.
- 三、 Elkhonon Goldberg 著, 大腦總指揮：一位神經科學家的大腦之旅, 洪蘭 翻譯, 初版, 台北市, 遠流出版社, 2004 年印刷.
- 四、 John A. Kiernan 著, 巴氏神經解剖學 徐淑媛 陳金山 編譯, 第一版, 台北市, 藝軒出版社, 2003 年印刷.

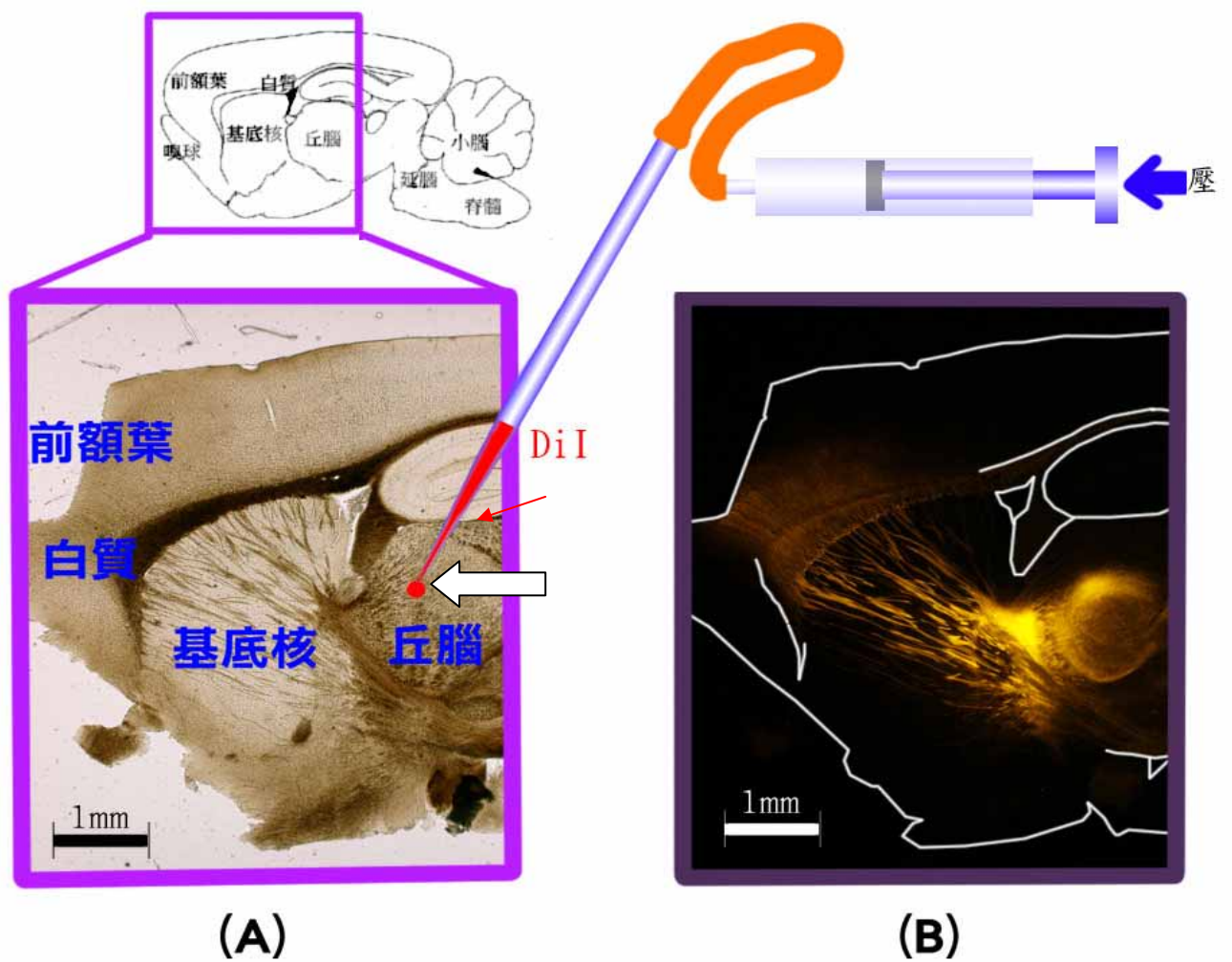
五、 Scott J. Cruikshank, Heather J. Rose and Raju Metherate. 2002. Auditory thalamocortical synaptic transmission in vitro. *J Neurophysiology*, 87: 361–384.

六、 Sephen W. Kuffler, John G. Nicholls and A. Robert Martin 著,神經生物學：從神經元到大腦,張人驥 潘其麗 翻譯 宋健 校正,第一版,台北市,淑馨出版社,民國 84 年,第一刷.

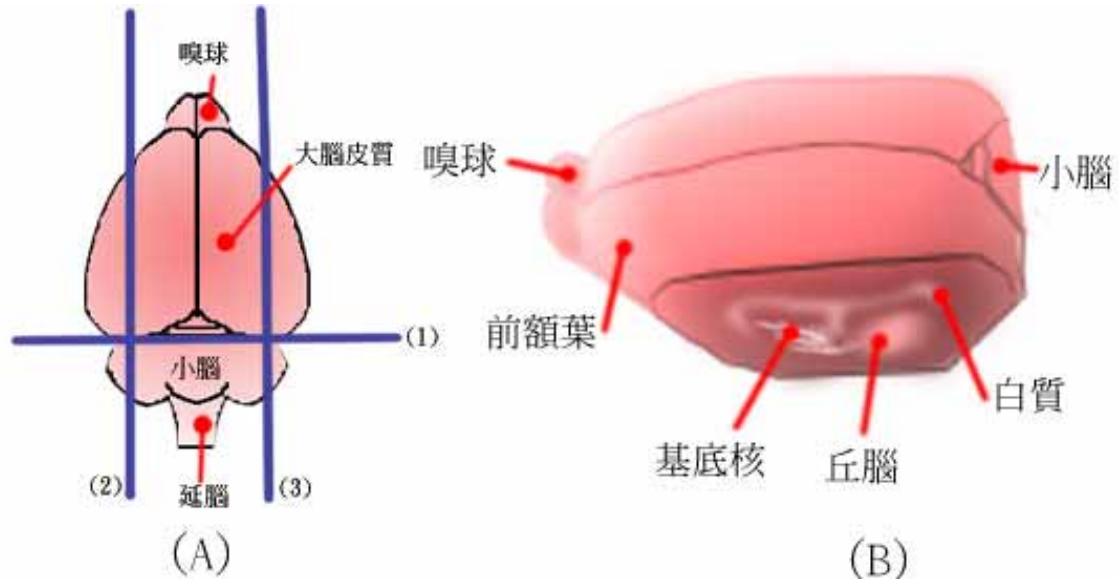
### 捌、誌謝：

感謝教授不辭辛勤的指導，以及學長學姐的熱心建議，除了讓我增進神經方面的知識外，更深切體驗到一個實驗嚴謹的完整流程以及對生命尊重的意義，真慶幸有這樣一個難得且寶貴的學習經驗。也感謝父母一路的支持，使我在一個又一個叉路上，能踏穩正確的腳步，使我更能爲了理想而堅持著。如果沒有他們的支援指導，這篇報告亦不會誕生。在此，對所有幫助我的長輩們，致上最誠摯的敬謝之意。

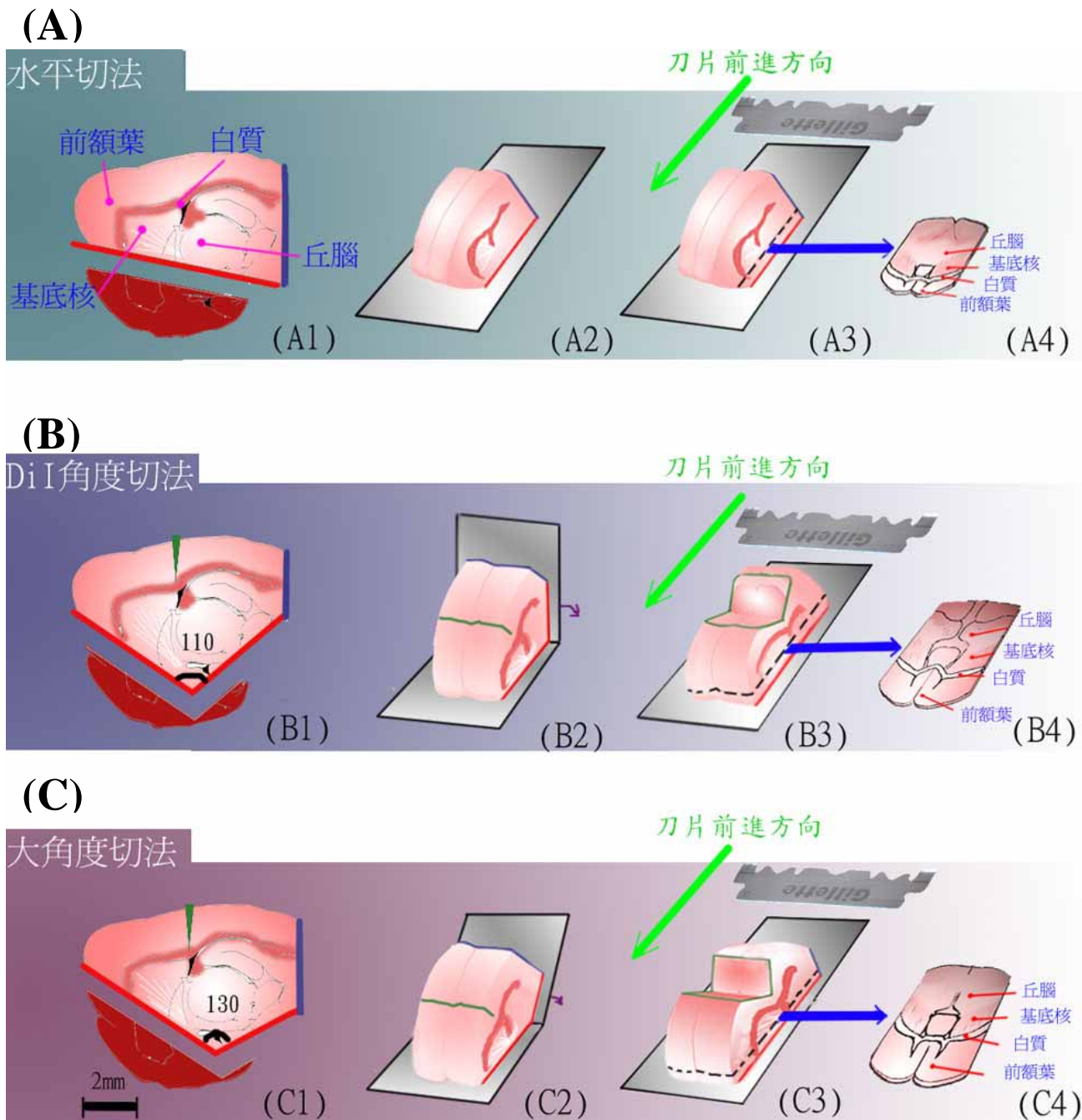
## 玖、圖表



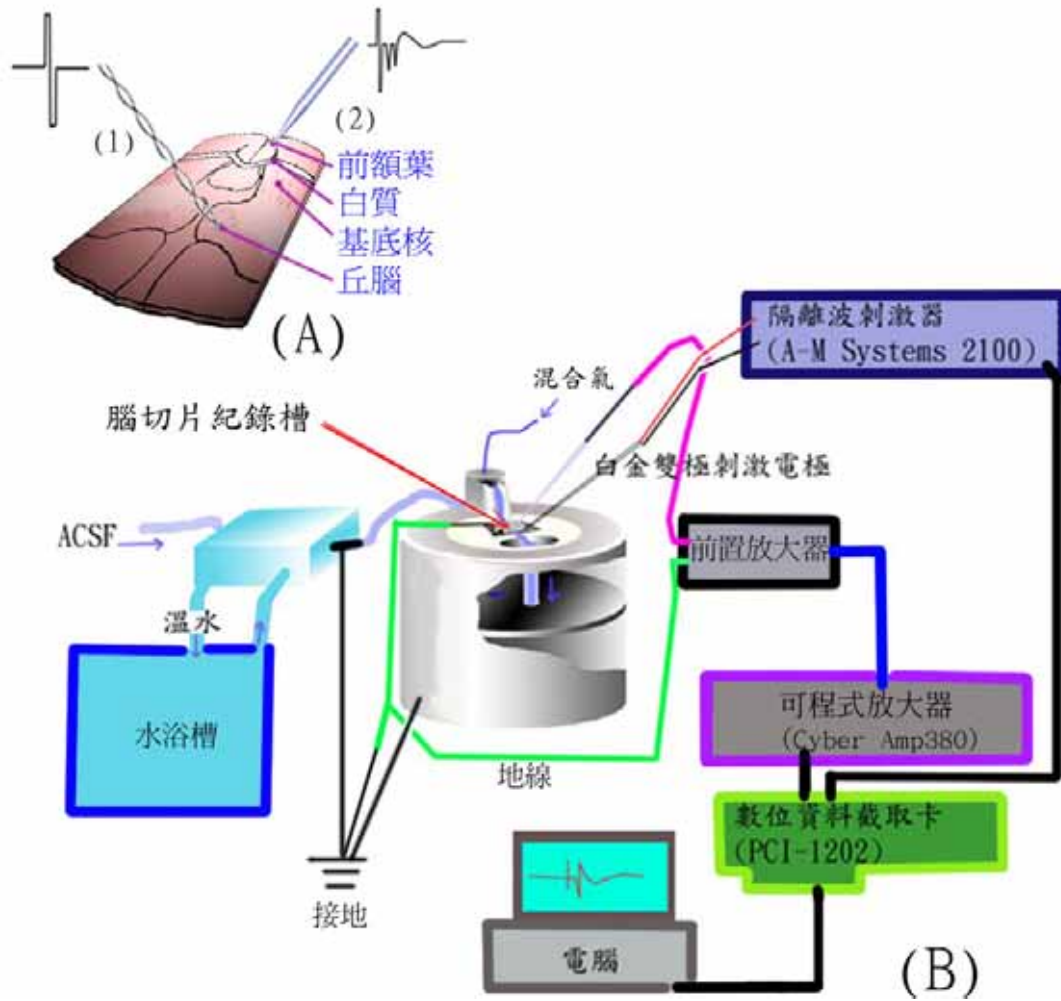
圖一。依圖譜位置將 DiI 打入丘腦。(A)紅色點為打入點(白色箭頭指向)。腦切片在普通光源下的影像。(B)在螢光下，被染色的神經束發出紅光，但因本圖經濾光後拍攝，故為黃色。



**圖二. 腦塊的取法。** (A)為腦之上視圖。先將小腦切除(1)，再從中間往兩旁延伸約全腦寬之四分之一處，左右各縱切一刀(2)、(3)。(B)切好的腦塊(斜側視圖)。

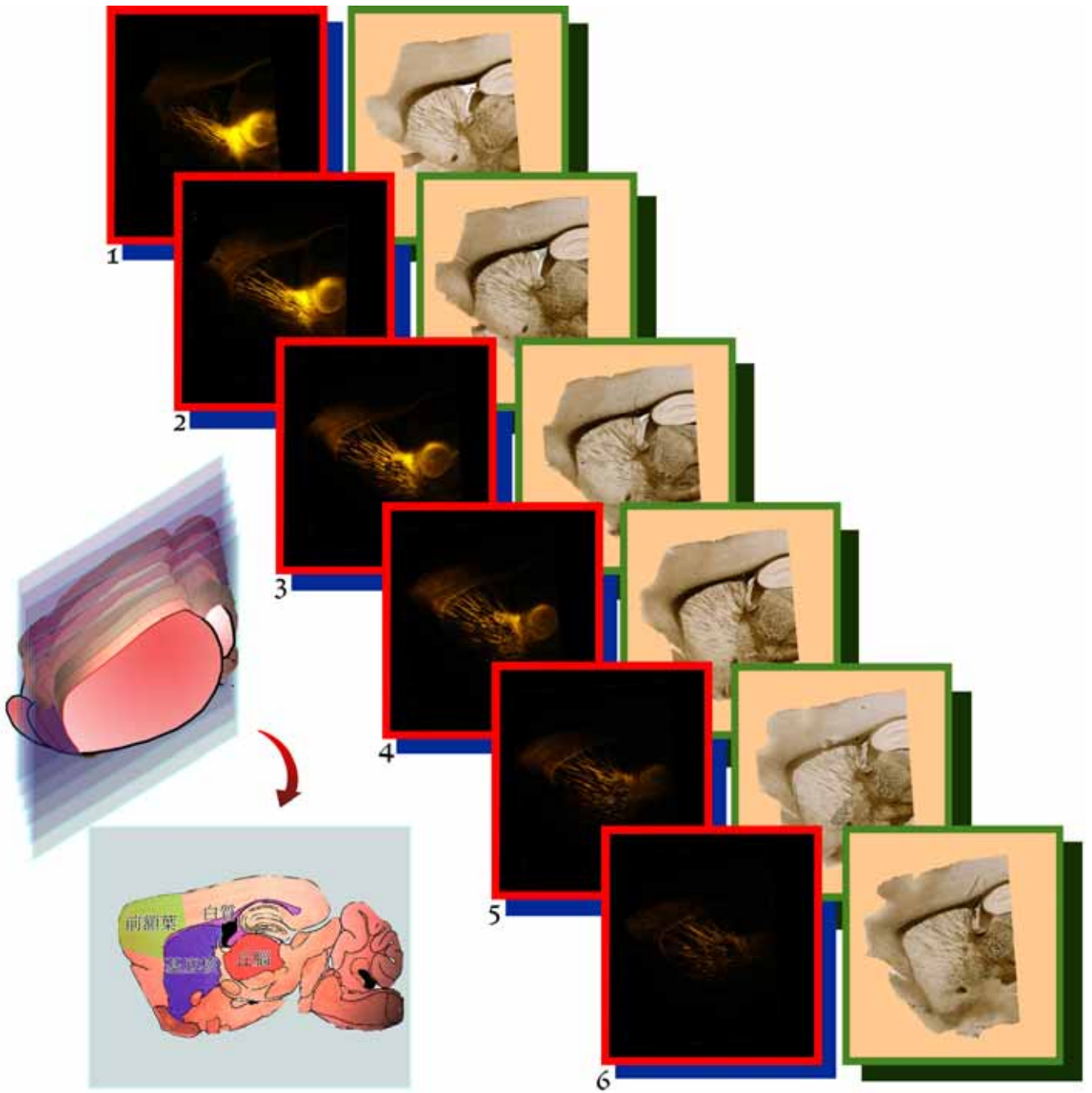


**圖三. 不同角度的腦切片取法。** (A)為水平切法。(A1)水平切法腦塊側視圖。平行丘腦到前額葉連線，沿紅線水平切入，去除以下部分(深紅色區域)。(A2)將沿紅線所切出之切面用快乾膠粘著於不鏽鋼片上。(A3)將腦塊置於組織切片機上切片。(A4)為切出的腦切片，其中含有丘腦、基底核、白質及前額葉。(B)為DiI角度切法。(B1)DiI角度切法腦塊側視圖。平行DiI角度，沿紅線切入，去除以下部分(深紅色區域)，沿綠線橫切使腦塊可以展開。(B2)將沿紅線所切出之切面用快乾膠粘著於彎曲之不鏽鋼片上。(B3)展平不鏽鋼片，使腦塊展開後置於組織切片機上切片。(B4)為切出的腦切片，其中含有丘腦、基底核、白質及前額葉。(C)為大角度切法。(C1)大角度切法腦塊側視圖。沿紅線切出約130度之夾角，去除以下部分(深紅色區域)，再沿綠線橫切使腦塊可以展開。(C2)將沿紅線所切出之切面用快乾膠粘著於彎曲之不鏽鋼片上。(C3)展平不鏽鋼片，使腦塊展開後置於組織切片機上切片。(C4)為切出的腦切片，其中含有丘腦、基底核、白質及前額葉。

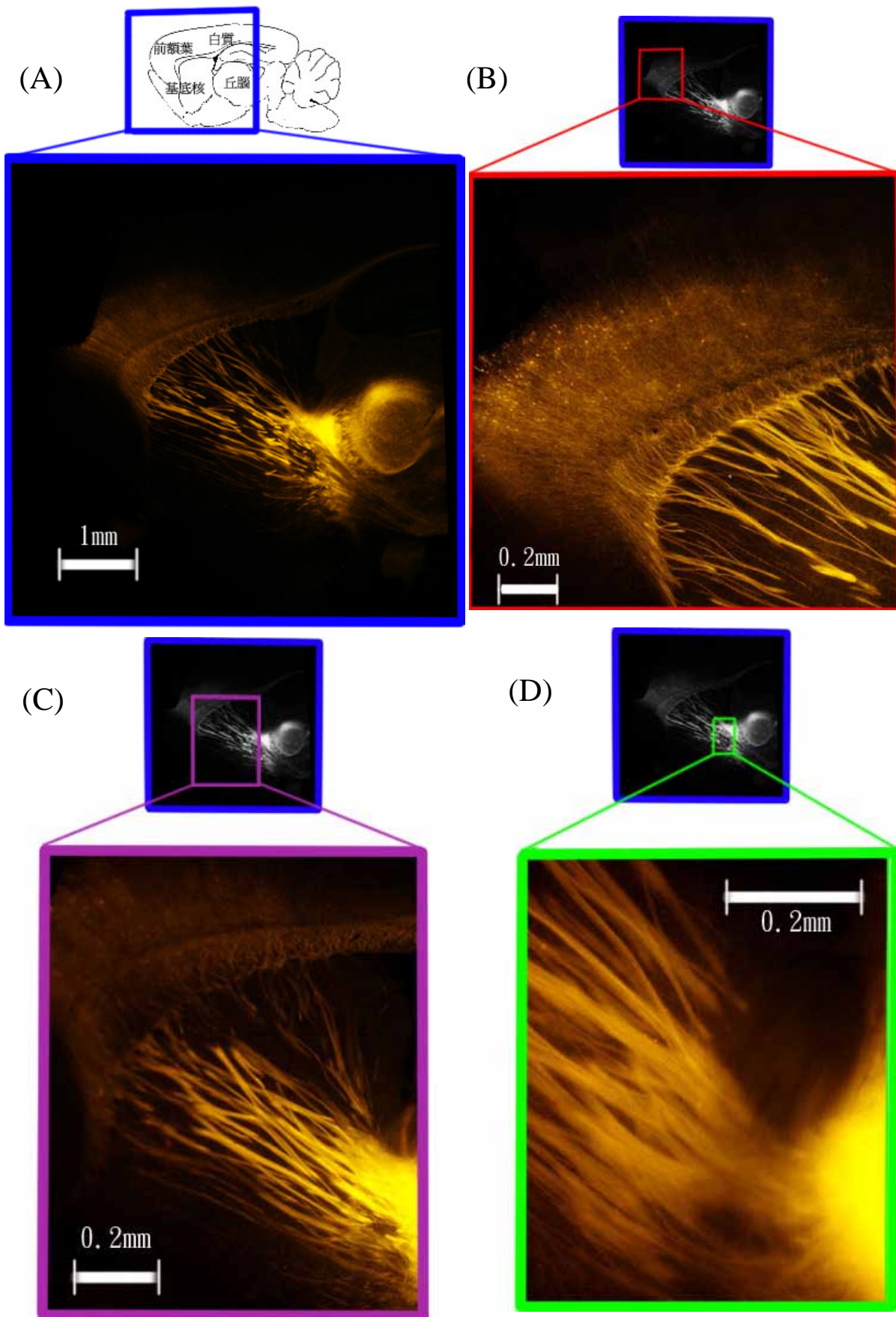


圖四. 實驗設備裝置示意圖。(A)在腦片上刺激與紀錄示意圖。由雙極白金電極(1)刺激所欲之腦區，以玻璃微電極(2)紀錄前額葉之神經電位變化。(B)線路配置及電生理刺激紀錄設備示意圖。

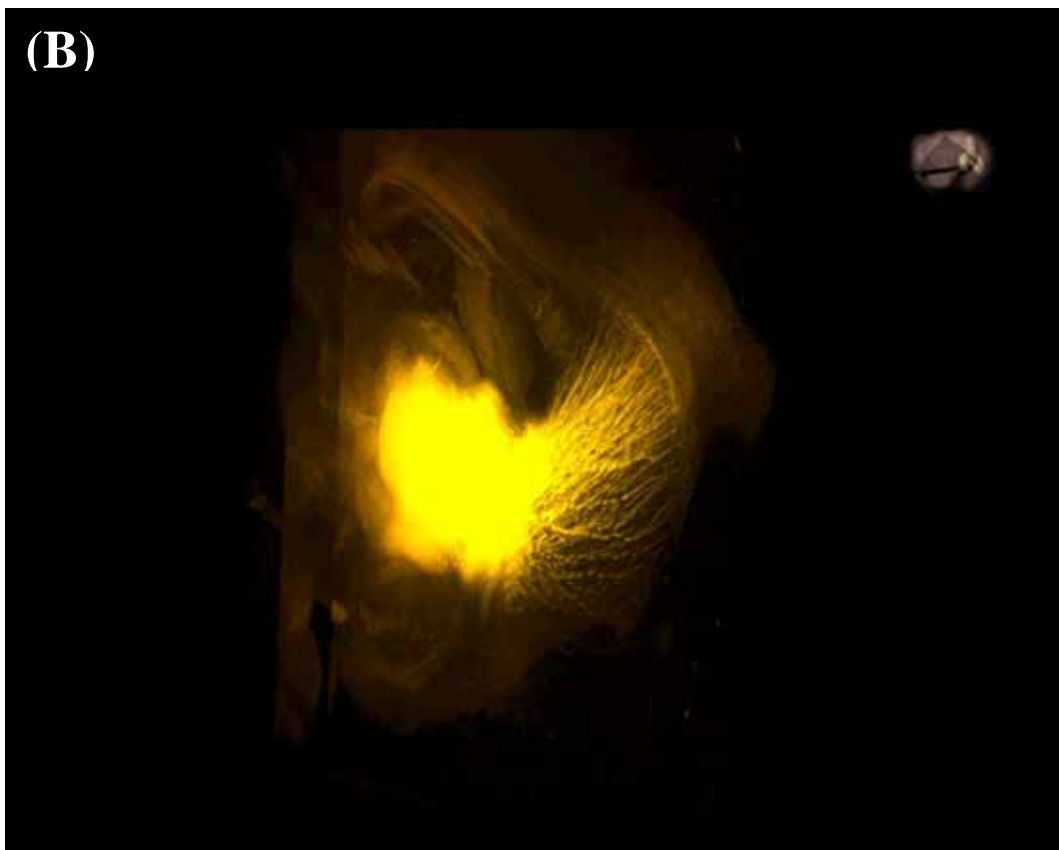
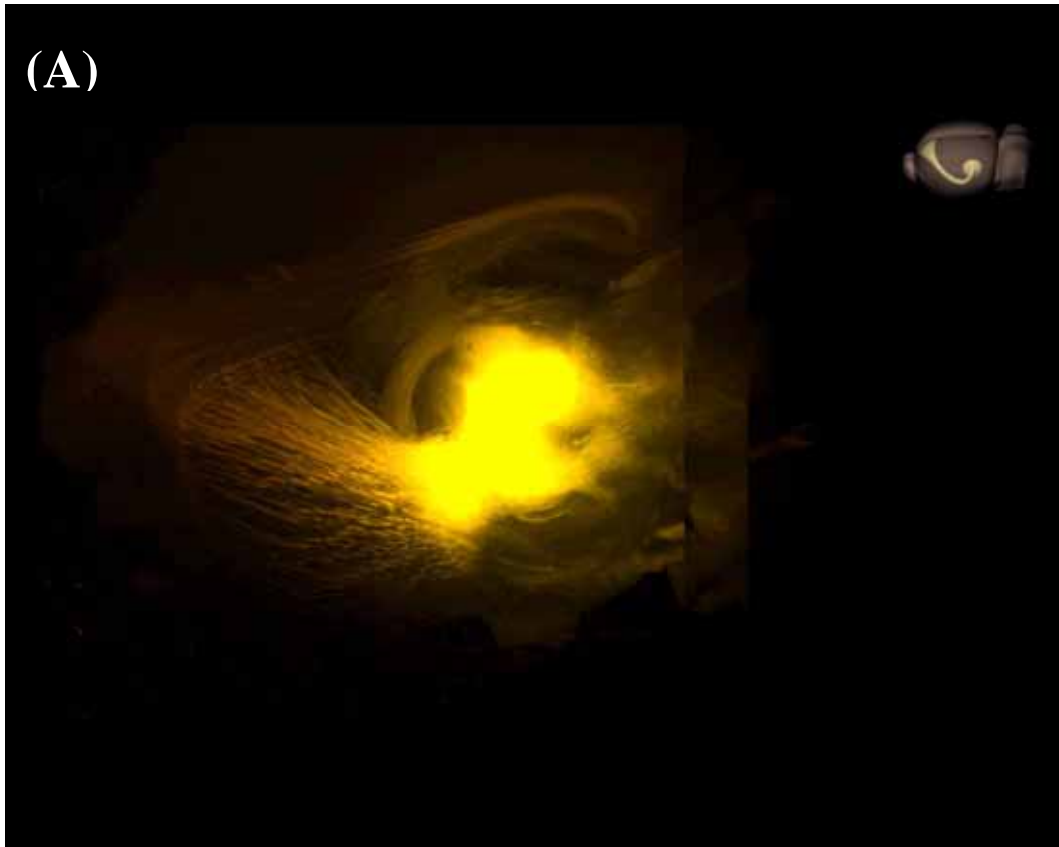




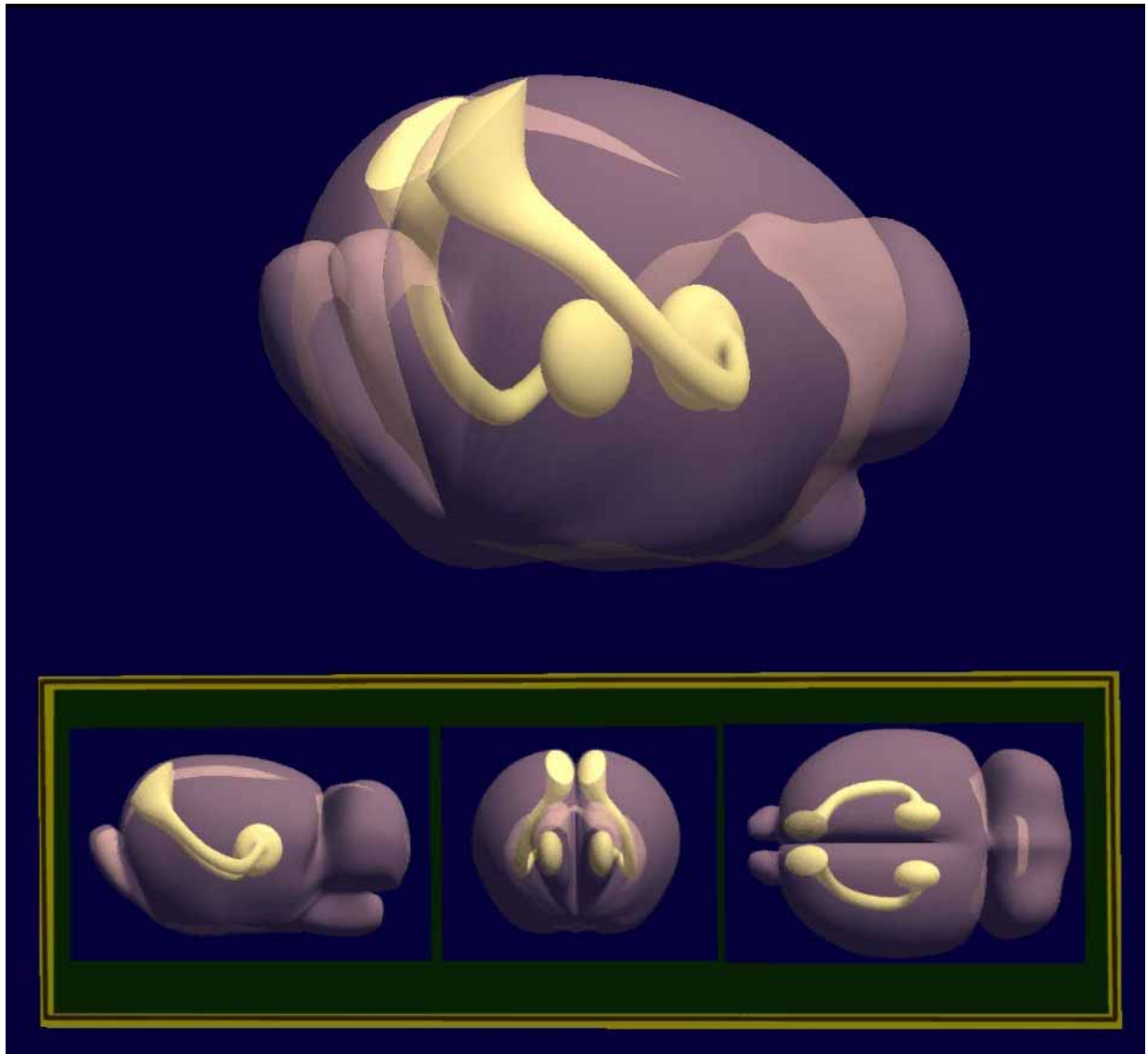
圖五. DiI 染色連續縱切腦片圖。由 1 到 6 為從中央向外側連續切片，每片相差 200 $\mu\text{m}$ 。(厚度 100 $\mu\text{m}$ ，間隔 100 $\mu\text{m}$ )



圖六. 在螢光顯微鏡下 DiI 所顯示的路徑。(A)全域圖。(B)前額葉放大圖。(C)基底核部分。(D)丘腦至基底核路徑轉折處放大圖。

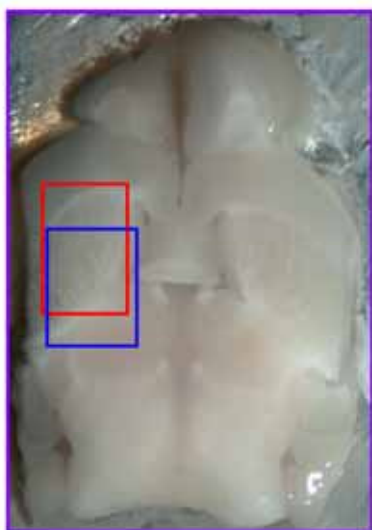


圖七. DiI 三度架構圖。 利用電腦圖像分析程式將連續切片的螢光影像組合成三度空間之架構。(A)斜側視角度，(B)後視角度。

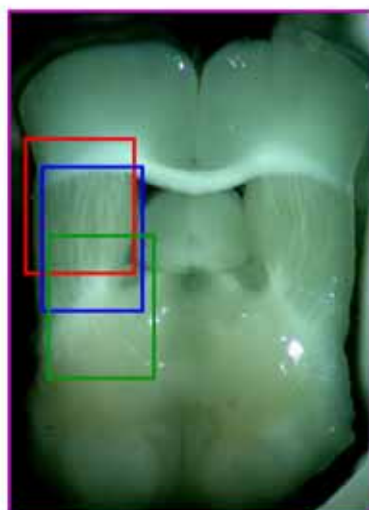


圖八. 丘腦至前額葉連結路徑三度架構模型。 依照螢光影像組合成三度空間之架構，所建立出的三度空間模型。

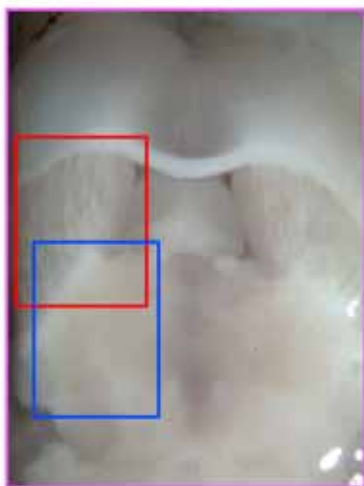
(A) 水平角度



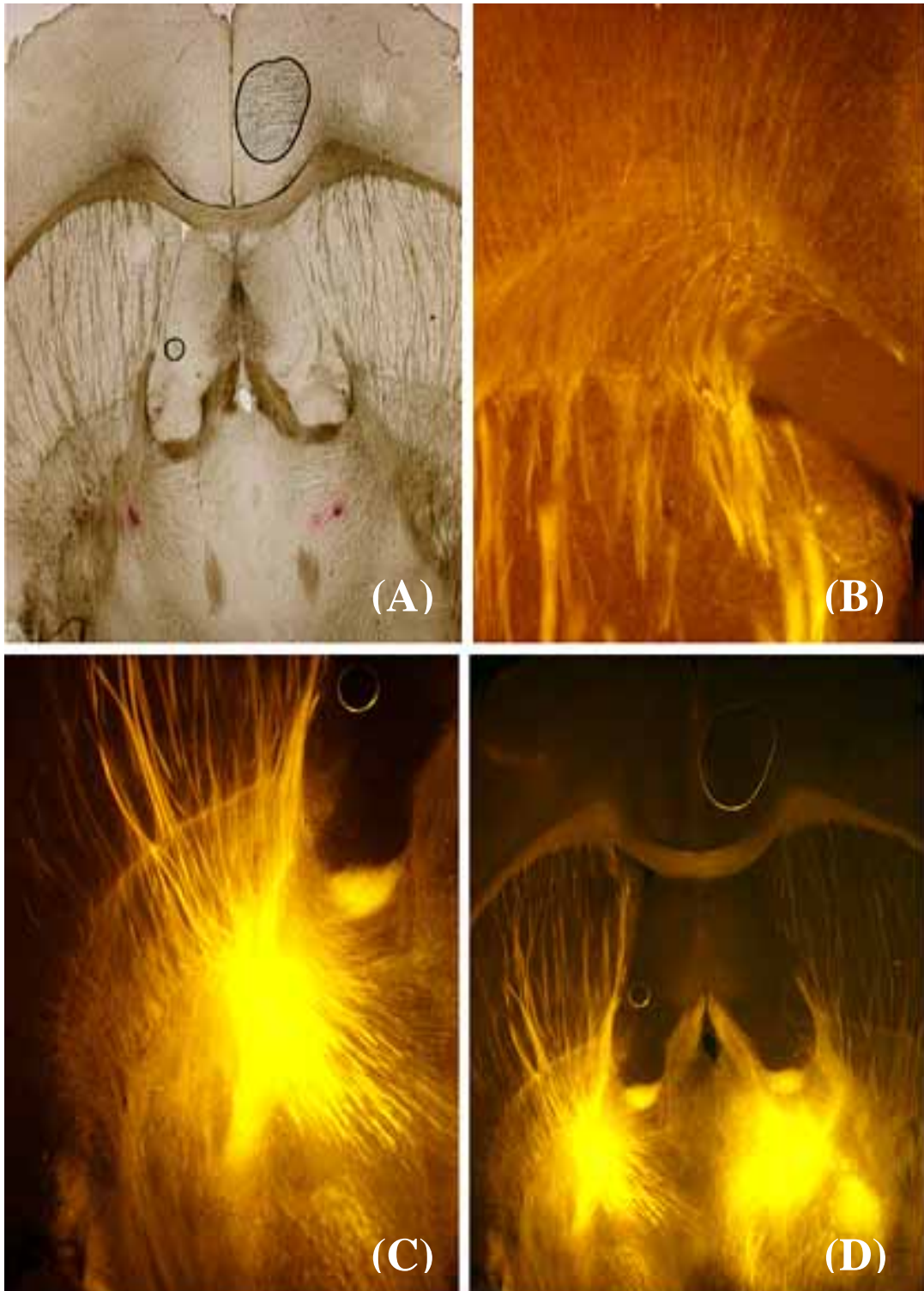
(B) DiI 角度



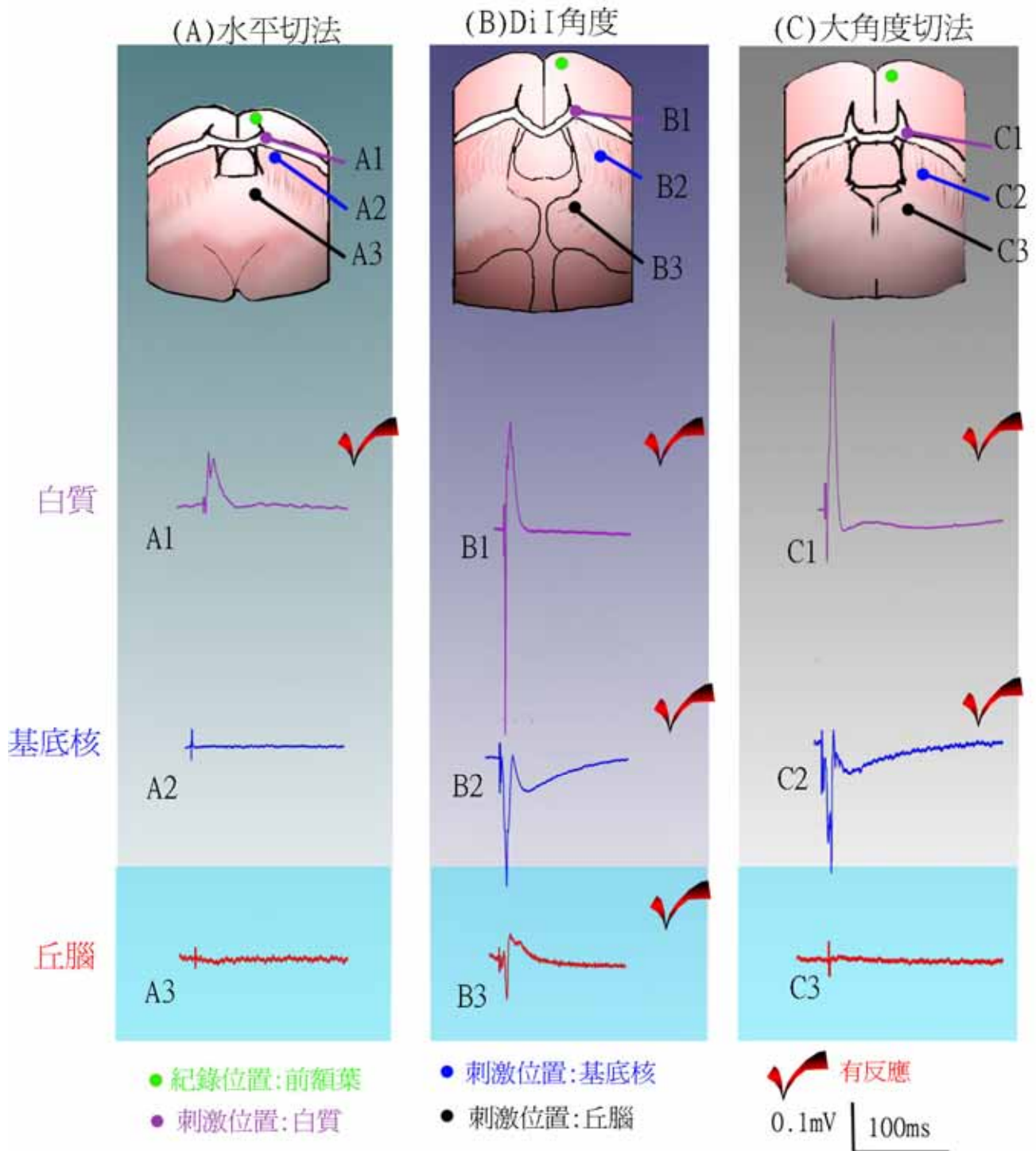
(C) 大角度



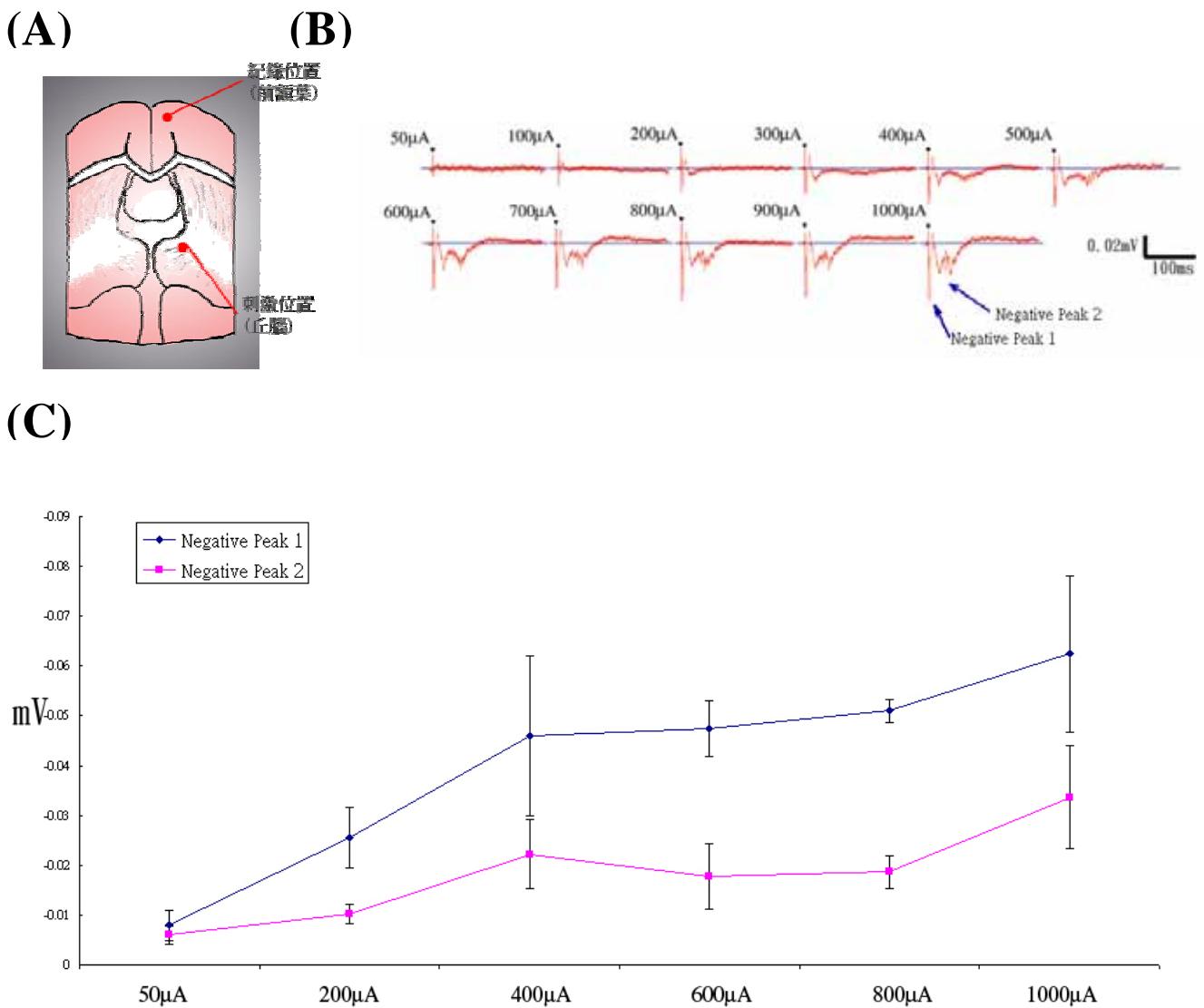
圖九. 不同角度之腦切片在顯微鏡下的組織圖。(A)在顯微鏡下水平角度之腦切片，可看出基底核與丘腦之間的纖維有明顯之斷口。(B)DiI 角度之腦切片，可看出纖維皆無明顯之斷口。(C)大角度之腦切片，可看出基底核與丘腦之間的纖維亦有明顯之斷口。



圖十. DiI 於 DiI 角度之腦切片所顯示的路徑。在 DiI 角度的腦切片上將 DiI 打入丘腦，在螢光下可見到從丘腦到前額葉皆有 DiI 存在，表示從丘腦到前額葉之路徑已被完整保存。(A)在可見光下的組織切片。(B)高倍數下影像，由基底核到前額葉之轉折。(C)高倍數下影像，由丘腦到基底核之轉折。(D)低倍數下影像顯示 DiI 由丘腦經基底核延伸到前額葉。

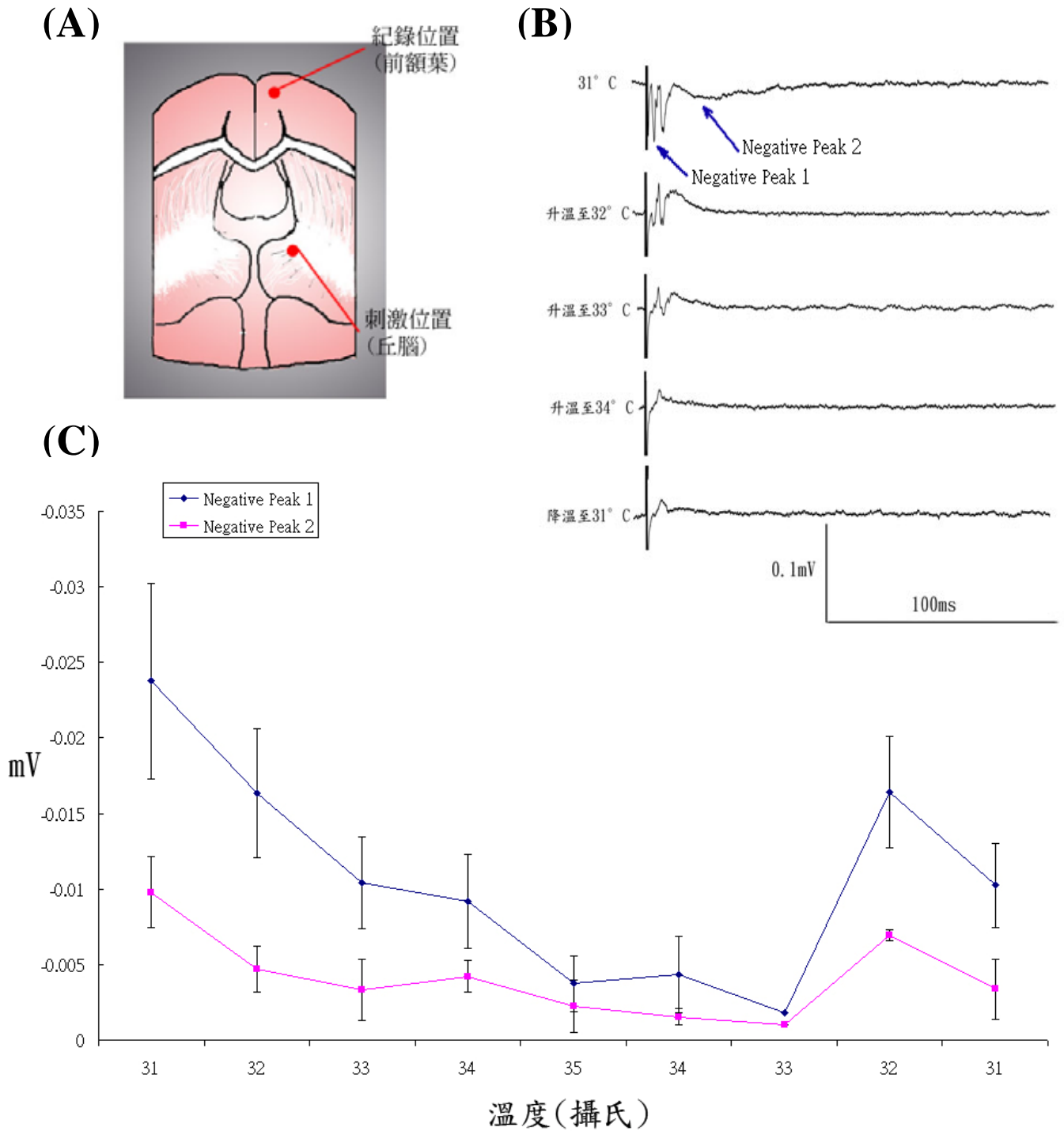


圖十一. 不同展開角度對前額葉誘發電位的影響。(A)系列為水平切法。(A1)刺激白質時前額葉的誘發電位。(A2)刺激基底核時前額葉無顯著誘發電位。(A3)刺激丘腦時前額葉無顯著誘發電位。(B)系列為 DiI 角度切法。(B1)刺激白質時前額葉的誘發電位。(B2)刺激基底核時前額葉的誘發電位。(B3)刺激丘腦時前額葉的誘發電位。(C)系列為大角度切法。(C1)刺激白質時前額葉的誘發電位。(C2)刺激基底核時前額葉的誘發電位。(C3)刺激丘腦時前額葉無顯著誘發電位。

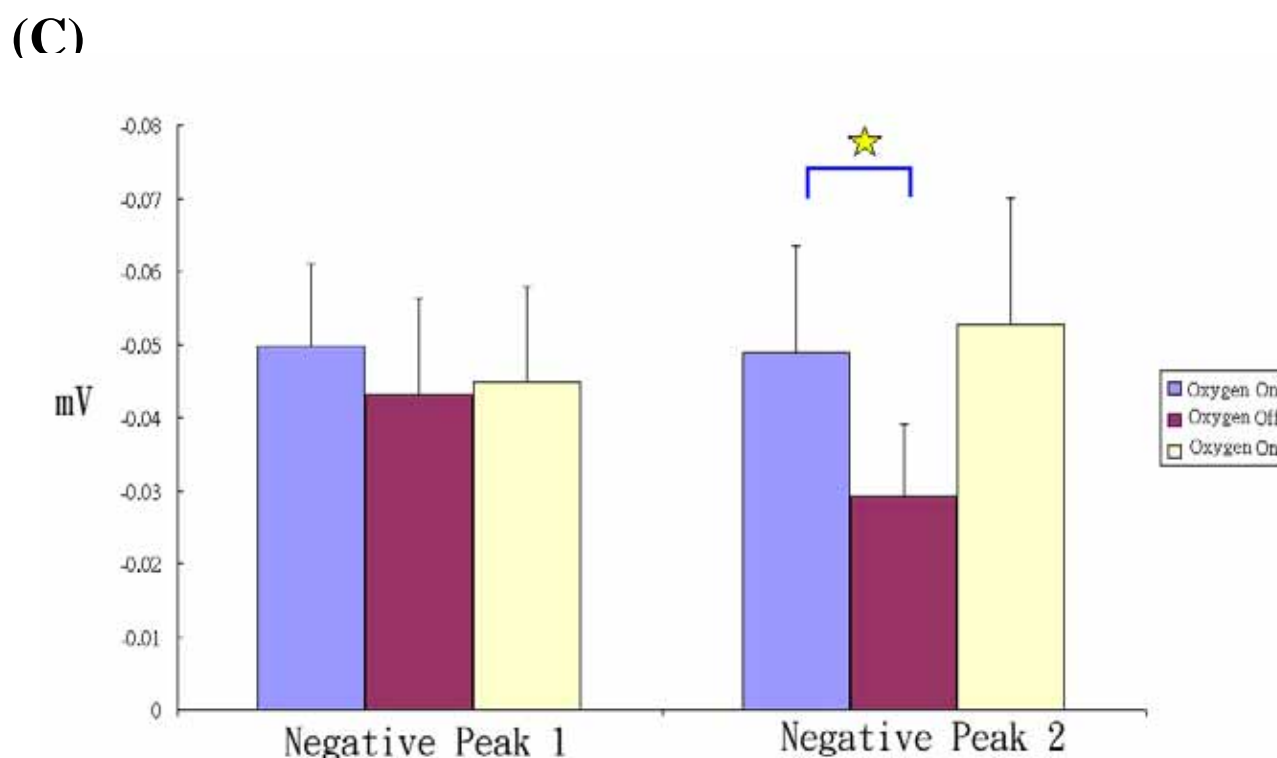
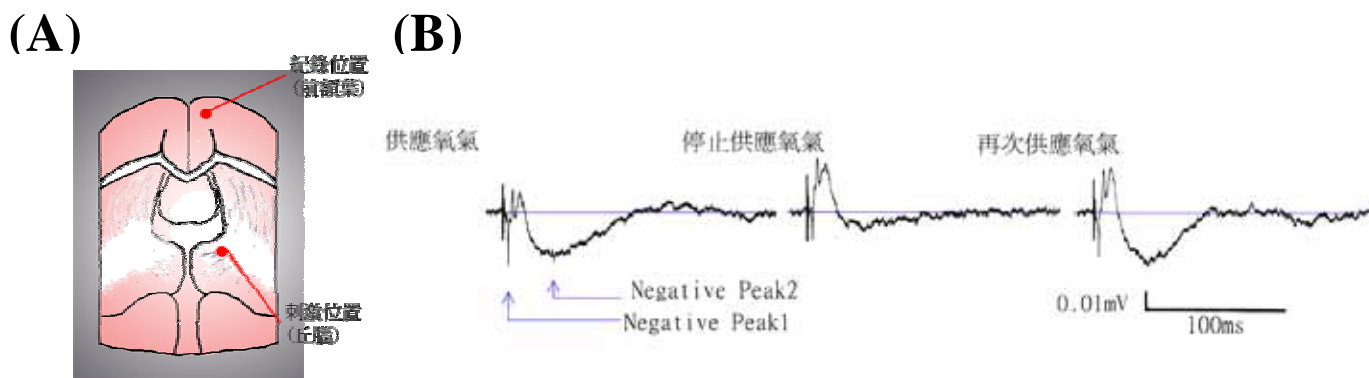


圖十二. 不同刺激強度對前額葉誘發電位的影響。(A) 刺激紀錄簡圖。(B) 使用不同強度的電流刺激丘腦，在前額葉所紀錄到的誘發電位。(C) 可看出刺激強度越強，所紀錄到的反應越大。從分析出的反應數值，可見到較快(negative Peak 1)與較慢(negative Peak 2)的兩個負向反應隨著刺激強度增強而變大(n=5)。

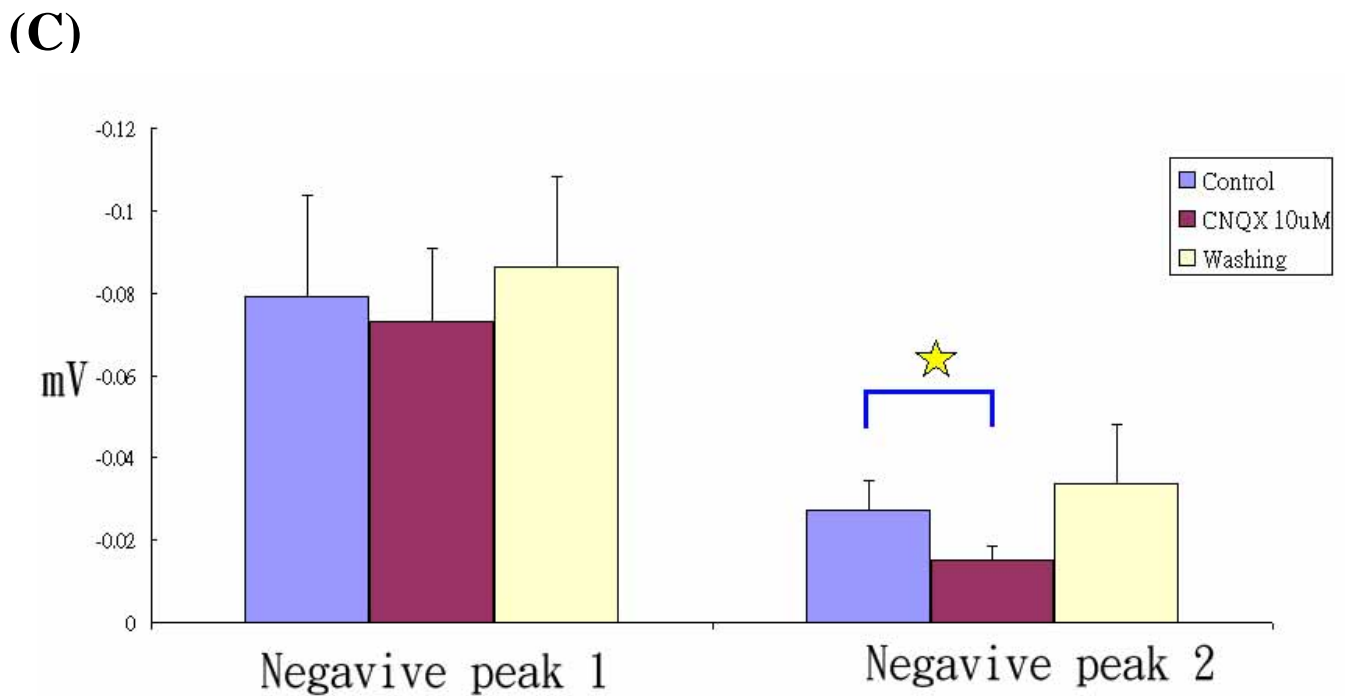
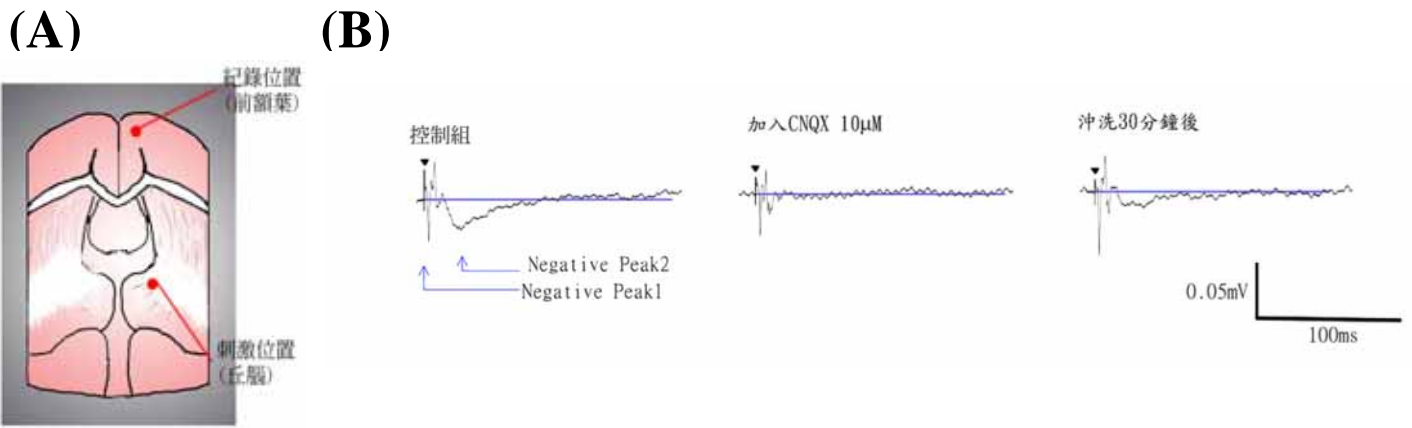




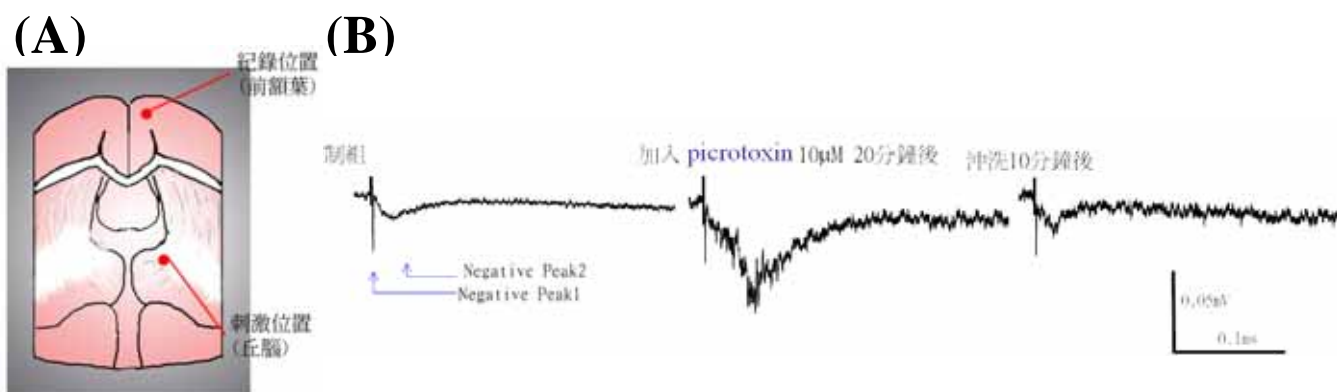
**圖十三. 溫度對前額葉誘發電位的影響。** (A) 刺激紀錄簡圖。(B)腦片在不同溫度下，刺激丘腦，在前額葉所紀錄到的誘發電位。(C)由分析出的反應數值，顯示較快與較慢的負向反應皆受溫度的影響 (n=3)。並且可看出溫度越高，所紀錄到的反應越小，顯示出高溫對此路徑的活性具有不良影響。



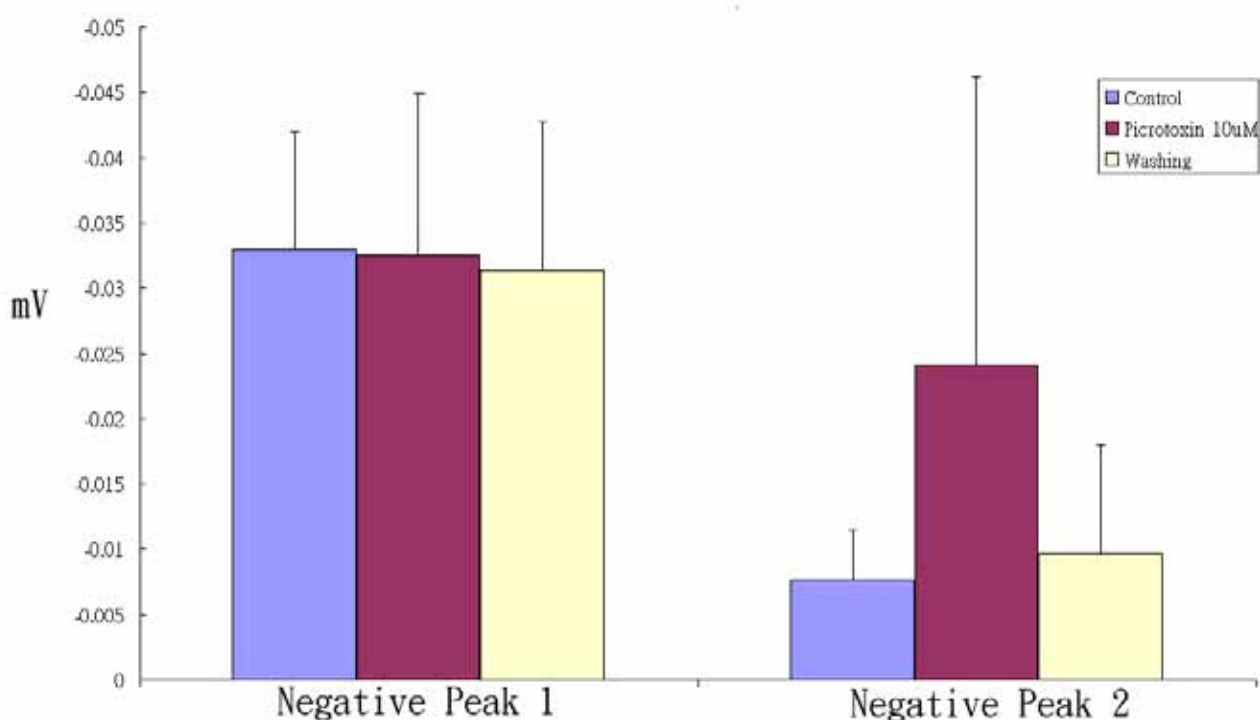
**圖十四. 氧氣對前額葉誘發電位的影響。** (A) 刺激紀錄簡圖。(B) 改變氧氣的供應，觀察刺激丘腦在前額葉所紀錄到的誘發電位的變化。(C) 從分析出的反應數值，可看出氧氣的影響對較慢的負向反應(Negative Peak2)有顯著性影響(★,  $p < 0.05$ ,  $n = 4$ )，並且此作用是可復原的。(刺激強度： $600\mu A$ )。



**圖十五. CNQX 對前額葉誘發電位的影響。** (A) 刺激紀錄簡圖。(B) 加入 CNQX，刺激丘腦在前額葉所紀錄到的誘發電位變化。(C) 加入 CNQX 會使反應變小，經沖洗後又回到將近原來的反應大小。而較慢的負向反應(Negative Peak2)變化最為明顯(★， $p < 0.05$ ， $n = 6$ )。(刺激強度：500 $\mu$ A)。



(C)



圖十六. **Picrotoxin** 對前額葉誘發電位的影響。(A) 刺激紀錄簡圖。(B) 加入 **picrotoxin**，刺激丘腦在前額葉所紀錄到的誘發電位變化，較慢的負向反應在加入 **picrotoxin** 有明顯的變化。(C) 由分析的反应數值，可看出加入 **picrotoxin** 會使較慢的負向反應反應變大，經沖洗後又回到將近原來的反應大小。(刺激強度： $600\mu\text{A}$ )。