

國立臺灣大學醫學院生理學研究所

博士論文

Graduate Institute of Physiology

College of Medicine

National Taiwan University

Doctoral Dissertation

肢體刺激誘發神經反射所引起之特異性血流變化

Neural reflex-mediated specific blood flow change

after limb stimulation



黃忠信

Chung-Shin Huang

指導教授：蔡元奮 博士

王淑芬 博士

Advisor: Yuan-Feen Tsai, Ph.D.

Shwu-Fen Wang, Ph.D.

中華民國 102 年 1 月

January, 2013

國立臺灣大學博士學位論文
口試委員會審定書

肢體刺激誘發神經反射所引起之特異性血流變化

Neural reflex-mediated specific blood flow change
after limb stimulation

本論文係黃忠信君（D95441002）在國立臺灣大學醫學院生理學研究所完成之博士學位論文，於民國一百零二年一月二十四日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明



口試委員：

(指導教授)

所長：_____

誌 謝

畢業是另一個新階段的開始，最要感謝的是七年前的自己；如果沒有當時的堅持不放棄，就不會有這一天的到來。當年為了想利用科學方法驗證臨床觀察的新發現，而參加生理所碩士班甄試。口試過程雖已知錄取無望，試後毅然厚顏寫信給所上幾位老師，野人再現曝一番，沒想到一生中最大的貴人就出現了，蔡元奮老師來電告知，與林仁壽教授有興趣來診所了解療法。如果沒有蔡老師，絕不可能進入台大，也不可能透過這六年半的學習，為下階段研究打下扎實的基礎。

因為離開學校及從事臨床工作太久，一開始許多思維及做法與科學研究的精神落差頗大，雖然造成實驗過程與進度不如預期順利，但始終深信學習與研究是嘗試錯誤的歷程，如此才能從中獲得寶貴的經驗。這過程中除了感謝蔡老師的懇切教誨外，物理治療所王淑芬教授指導頗多，尤其人體試驗的部分，無論是倫委會的許可申請、實驗設計與統計分析方法，或是研究方法學與研究精神的指導，都受益良多，謝謝您。所上各位老師在課業上多所指導與協助，李鳳珠小姐、林郁政先生、陳香君小姐及陳怡文助教的幫忙，在此一併致謝。最為遺憾的是林仁壽教授殷殷期許，卻因病辭世未能目睹此刻的到來。

早期從零開始摸索，最辛苦也最不可能立見成果，感謝威穎與書枰分別在人體試驗與動物實驗的投入。後續人體試驗有章伊、至中、昱慶、淑萍、玲綸及郁芬的幫忙，動物實驗有戴美雲小姐、彥陞、淑萍、依婷及雅慧的協助，謝謝你們。最後這個階段能順利突破，最需要謝謝的是俞宏、雅慧與依婷的通力合作。當然每天都有門診工作，在工時已超過一般上班族，又要每週南下台中及高雄看診，還能撥空修課及進行實驗與論文寫作，這都要感謝診所所有同仁的協助，尤其是陳惟華醫師幫忙分擔門診工作，讓我無後顧之憂，不致分身乏術。

最後需感謝將我生活照顧得無微不至的妻子美齡，沒有妳，我絕對無法完成這個目標，也要感謝兒子建文女兒琬婷的打氣。同時要將這份榮耀與父親、岳父、岳母、妹妹們及家族親友分享，謝謝您們多年來的關懷與支持。

摘 要

動物為了生存所需，會經由神經系統的作用不斷對內外環境的變動進行監控與調適。其對於外來刺激所產生的反應有很大的部分與血流量的改變有關。這些反應有些是廣泛性的，有些則具有局部特異性。如能釐清各神經系統之間刺激反應的對應關係，以及其所產生的特異性血流量改變，就有可能藉由人為施予物理性的刺激，來產生預期的反應，以達到調控神經功能與改善生理功能的目的。

本研究嘗試建構此種刺激反應研究所需的方法學，並利用其驗證某些刺激反應關聯性的規則。研究的檢測方法係採用局部熱充血反應（local thermal hyperemia）測試來觀察加熱後的局部血流增加現象，此反應被認為與感覺神經的功能有關，且受到交感神經活性與一氧化氮基礎濃度所調控。治療的方法則採用目前已廣泛應用於臨床與研究的電刺激（electrical stimulation），觀察電刺激對目標部位所產生的血流量改變情形。

以往運用的局部熱充血反應測試採用隨機選取的測量部位來進行，其加熱時間需超過 30 分鐘。雖然採用最大血管擴張量（maximal dilatation）來校正各部位微血管密度的差異性，但採用單點式雷射杜普勒血流計（single-point laser Doppler flowmetry）量測的再測信度（reproducibility）不佳。本研究改良上述之缺點，使用單點式雷射杜普勒血流計，在同一個部位進行測試，且加熱時間縮短為 5 分鐘。結果顯示，在只間隔 45 分鐘的同一測期裡，針對前臂背面同一個部位進行重複測試，其軸突反射熱充血反應具有良好的再測信度。此外，本研究進一步發現，如測試部位以預先界定的規則來重新定位，在間隔一至三日後重複再測試，則短時間局部加熱所引發的軸突反射充血反應仍具有良好的再測信度。但在其右前臂與左前臂的局部熱充血反應具有不同的再測信度，而延長環境適應的時間則可提高再測信度。

上下肢的解剖結構具有對稱性，為了維持肢體的正常移動，上下肢之間有非

常即時而良好的互動協調。因此，本研究第二部份係採用此種具有再測信度而使用方便的測試方法，以上下肢之間的刺激反應，來探討是否兩者之間存在特異性的刺激與反應關聯性，以及其對應的規則為何。方法是利用辣椒素紗布敷貼於人體單側小腿皮膚來誘發局部發炎反應，並使用雷射杜普勒血流計測量兩側前臂解剖上的對應部位與非對應部位兩處的局部熱充血反應。結果顯示右小腿的辣椒素刺激會增強右前臂對應部位的局部熱充血反應，而左小腿的辣椒素刺激則對左右兩側前臂的局部熱充血反應都不影響。推測此種反應可能是經由體交感神經反射，使交感神經活性提高，進而影響軸突反射強度。此結果顯示上下肢之間可能存在特異性的刺激反應作用，其作用不僅具有解剖上特異性之對應關係，且左右側的反應並不相同。

為探討人為施加刺激可否在上下肢對應部位產生調整生理功能的作用，本研究的第三部份採用大鼠兩側後肢缺血 60 分鐘，於 24 小時之後在單側前肢進行 30 分鐘不同頻率的電刺激（3、45 或 45 Hz），以雷射杜普勒影像儀觀察兩側後肢體表血流的變化。結果發現前肢電刺激可以造成後肢特定部位的血流量產生特異性的改變。以 125 Hz 電刺激左前肢可改善兩側後肢血流，而電刺激右前肢則對兩側後肢的血流量都無作用。不同頻率電刺激與電刺激在不同側前肢所產生的後肢血流改變效應不同。推測其效應可能來自體交感神經反射，使後肢特定部位的交感神經張力下降，進而增加血流。

綜合以上實驗結果，本研究改良了局部熱充血反應測試方法，不但大幅減少檢測所需之時間，亦提高其再測信度，可用來評估單純由神經媒介的軸突反射。此方法也藉由辣椒素體表刺激後，於上下肢之間的解剖對應部位得到局部熱充血反應量的顯著改變。因此，今後在進一步研究確認此種改變是經由體交感神經反射的作用後，此方法未來可針對有興趣的目標部位進行測試，以了解該部位的交感神經活性之變化。本研究也發現上肢電刺激可以在下肢產生特異性血流改變，

故亦有機會應用在分析體交感神經反射之刺激反應部位的關聯性。

經由發現局部熱充血反應與電刺激之較佳參數，本研究結果顯示這兩項技術可以用來檢測與驗證特異性的體表刺激與反應規則。在進一步探究以確認其刺激反應是經由體交感神經反射的作用後，可利用此等技術繼續探討與建立刺激反應的對應規則，進而發展實用的標靶神經調節 (targeted neuromodulation) 技術，臨床上有潛力可運用於治療各種與神經與血液循環系統功能失調有關的疾病。

關鍵詞：軸突反射、局部熱充血反應、電刺激、皮膚血流、交感神經反射



Abstract

Animals adjust their physiological conditions through the nervous systems to accommodate the internal and external environmental challenges, and their stimuli-responses act according to certain mechanisms. The responses are majorly related to the changes of blood flow which are either generalized or specific. If the mechanisms of stimuli-responses could be clarified, we can use certain artificial physical stimuli to regulate the physiological functions through neural modulation.

The previously used protocols of LTH tested the randomly selected recording sites and the heating time was longer than 30 min. Although the axon reflex (AR) flare has been normalized by maximal vasodilatation to adjust the spatial heterogeneity of capillary density, the reproducibility of previous method using single-point laser Doppler flowmetry (LDF) was poor. The results of this study demonstrated that single-point LDF is a reproducible technique of assessing AR flare on dorsal surface of the forearm twice with 45 min apart when the heating period is reduced to as short as 5 min and the recording sites are fixed. In addition, the AR flare induced by short local heating is reproducible with 1-3 days apart when the recording sites are relocated by a predefined rule. The reproducibility of LTH on the right forearm is different from that on the left forearm, and the increase of acclimation period can improve the reproducibility.

The anatomical structures of upper and lower limb are symmetrical. There is timely and good coordination between upper and lower limbs to keep the free motion of limbs. In this study, the stimuli-responses between upper and lower limbs were investigated. Capsaicin epidermal stimulation was applied on the unilateral leg and LTH was measured by LDF on the corresponding and non-corresponding position of bilateral forearm. The results demonstrated that stimulation on the right leg enhanced the LTH response on the corresponding position of right forearm. Stimulation on the left leg did not affect the LTH response of bilateral forearm. This effect may be attributed to that the LTH response was enhanced by increased sympathetic tone which was mediated by somato-sympathetic reflex. These results showed that an anatomically specific stimulus-response may exist between upper and lower limbs.

Electrical stimulation (ES) with 3, 45 or 125 Hz for 30 min was applied to unilateral forelimb 24 hrs after bilateral hindlimb ischemia for 60 min to explore whether this stimulation could adjust the physiological condition on the corresponding region of hindlimb. Laser Doppler imager was used to measure the blood flow change on bilateral hindlimb during and after ES. The results showed that ES on forelimb may induce specific blood flow change on specific region of hindlimb. ES with 125 Hz on left but not right forelimb could induce significant blood flow increase on bilateral hindlimb. It may infer that the blood flow increase may be attributed to the decreased sympathetic

tone which was mediated by somato-sympathetic reflex.

These results showed that short-heating LTH method can be reproducible and be used to evaluate the simple nerve-mediated AR. Capsaicin stimulation induced a specific LTH change of the anatomical corresponding positions between upper and lower limb. Hence, after further verifying the response was mediated through somato-sympathetic reflex, this method can be used to evaluate the change of sympathetic activity on the region of interest. Finally, these results indicated that ES on forelimb may induce a specific blood flow change on hindlimb. Therefore, after further verifying the blood flow change is mediated through somato-sympathetic reflex, the topographical relationship of somato-sympathetic reflex may be established.

These results suggested that the techniques of both LTH and ES can be used to investigate the specific rule of stimuli-responses after adopting better parameters. Therefore, they can be applied to further explore and establish the corresponding rules of stimuli-responses and to develop a targeted neuromodulation therapy with a potential to treat the disorders of nervous and blood circulatory system.

Keywords: axon reflex, local thermal hyperemia, electrical stimulation, skin blood flow, somato-sympathetic reflex

目 錄

口試委員會審定書	i
誌謝	ii
中文摘要	iii
英文摘要	vi
目錄	ix
圖目錄	xi
表目錄	xiii
第一章 導論	1
1.1 肢體刺激誘發神經反射	2
1.2 神經反射媒介之血流變化	4
1.3 上下肢之間的神經反射作用	6
1.4 研究動機及目的	7
第二章 短時間加熱誘發局部熱充血反應之同測期再測信度	10
2.1 前言	10
2.2 材料與方法	12
2.3 結果	15
2.4 討論	16
2.5 圖表	19
第三章 環境適應期間延長對短時間加熱誘發局部熱充血反應不同測期再測信度之影響	22
3.1 前言	22
3.2 材料與方法	24
3.3 結果	25
3.4 討論	26

3.5 圖表	31
第四章 以辣椒素刺激下肢體表對上肢皮膚局部熱充血反應之影響	34
4.1 前言	34
4.2 材料與方法	35
4.3 結果	38
4.4 討論	38
4.5 圖表	41
第五章 電刺激大鼠前肢對後肢缺血所產生之特異性血流量改變	44
5.1 前言	44
5.2 材料與方法	45
5.3 結果	48
5.4 討論	50
5.5 圖表	54
第六章 結論	61
參考文獻	66

圖 目 錄

第二章 短時間加熱誘發局部熱充血反應之同測期再測信度

圖 1 實驗進程序	19
圖 2 測量部位的解剖位置標記	19
圖 3 五分鐘體表加熱程序的血流與溫度變化情形	20
圖 4 五分鐘體表加熱程序的血流改變代表值	20

第三章 環境適應期間延長對短時間加熱誘發局部熱充血反應不同測期再測信度之影響

圖 1 五分鐘體表加熱程序的血流改變代表值	31
-----------------------	----

第四章 以辣椒素刺激下肢體表對上肢皮膚局部熱充血反應之影響

圖 1 實驗進程序	41
圖 2 下肢辣椒素刺激部位與上肢測量局部熱充血反應的對應部位及非對應部位示意圖	42
圖 3 以辣椒素刺激單側下肢後，刺激前與刺激後上肢各測量部位之熱充血反應量比較	43

第五章 電刺激大鼠前肢對後肢缺血所產生之特異性血流量改變

圖 1 動物實驗進程序	54
圖 2 動物施行電刺激與血流測量的照片	55
圖 3 後肢血流量分析範圍	55
圖 4 實驗過程中之血流分佈掃描圖	56
圖 5 前肢電刺激造成後肢血流量改變之情形	57
圖 6 四個小範圍血流量分析區域位置示意圖	58

圖 7 左前肢 125 Hz 電刺激造成左後肢各區域血流量之改變.....59

圖 8 左前肢 125 Hz 電刺激造成右後肢各區域血流量之改變.....60



表 目 錄

第二章 短時間加熱誘發局部熱充血反應之同測期再測信度

表1 男性與女性受試者基本資料.....21

表2 不同數據呈現方式的局部熱充血反應再測信度.....21

第三章 環境適應期間延長對短時間加熱誘發局部熱充血反應不同測期再測信度之影響

表1 30分鐘與60分鐘環境適應組受試者基本資料.....32

表2 不同數據呈現方式的局部熱充血反應之再測信度.....32

表 3 再測信度良好的短期間加熱局部熱充血反應數據摘要.....33



第一章 導論

動物為了生存所需，經由感覺神經系統監控環境的變化，並透過運動神經與自律神經系統採取立即的應變措施；這幾種神經系統之間持續保持著動態性的互相協調。當外來的刺激達到傷害性 (noxious) 的程度或外來的非傷害性刺激 (non-noxious) 持續過久或過大，導致動物無法在短期間內恢復正常的生理功能，將會使身體的機能逐漸出現失調的狀態，甚至造成永久性的功能受損 (McEwen and Wingfield, 2003; Romero et al., 2009)。此種刺激—反應有一定的作用機轉，身體調適的過程也有一定的運作規則。如能釐清各神經系統之間此種互動調適的對應關係，就可能藉由施予物理性的人為刺激，來產生可預期的反應，以達到調控神經功能的目的。這種神經調節技術如果應用在臨床上，將可治療許多與神經功能失調有關的疾病，例如自律神經失調或感覺神經異常等。

藉由長期的經驗累積，在臨床上已知可經由刺激體表的特定部位來治療某些疾病，其中使用最普遍的是肌筋膜疼痛治療的激痛點 (trigger point) (Simons and Travell, 1981; 1999) 與針灸治療所使用的經驗穴 (Choi et al., 2012)。當身體的器官或組織出現發炎反應時，在與它相對應的身體部位就會出現某種組織反應；這些反應包括：組織的色澤變化、產生條索狀物、硬結、皮膚脫屑、凹凸不平等一系列型態上的變化。此外，還有壓痛閾值 (pressure pain threshold) 降低及導電度 (electric conductivity) 增加等現象，其性質為前發炎 (proinflammatory) 或發炎 (inflammatory) 反應 (Dubin and Patapoutian, 2010; Ge and Arendt-Nielsen, 2011; Shah and Gilliams, 2008)。隋唐時代傑出的醫學家孫思邈 (公元 581-682 年) 所發現的阿是穴，就是此種刺激反應的典型表現。阿是穴是一個具有深部壓痛、壓痛閾值降低、皮膚電阻下降等特性的狹小區域，按壓該處常使病人表現出畏縮或閃避的反應，稱為「退避徵候」(withdrawal sign)。透過阿是穴給予針灸、按壓或電刺激等治療，可對誘發該阿是穴反應的

原病灶產生療效（鍾傑，1986）。

這些刺激反應之間的對應規則大都來自經驗的累積，其作用機轉與反應路徑迄今並未釐清。由於系統性的通則尚未形成，故療效奠基於醫師個人的經驗而無法一致。因此，如能發展出一套客觀而無侵入性的檢測方法，用來檢測對應各疾病可能的反應部位，再針對這些反應部位施予治療來觀察療效，將有助於建立完整可預測且再現性良好的療法。為達到上述目的，檢測方法可採用透過體表給予刺激來觀察生理現象的改變量，其中局部熱充血測試(local thermal hyperemia, LTH)為可行的方式之一。此方法的原理是在皮膚局部加熱來觀察血流的增加量，過去被認為是評估血管內皮功能(endothelial function)的指標(Cracowski et al., 2006; Johnson and Kellogg, 2010; Kellogg, 2006; Minson, 2010)，也被認為與感覺神經的功能有關(Bickel et al., 2009; Krishnan and Rayman, 2004; Krishnan et al., 2009)。測試療效則可採用目前已廣泛應用於臨床與實驗研究的電刺激(Dubinsky and Miyasaki, 2010; Kagitani et al., 2010)。在預測的反應部位施予電刺激，來觀察原病理部位已失衡的生理現象是否產生改變，則可以反過來進一步確認兩者之間的對應關係。因此本研究的目的乃探討有關研究此種刺激反應所需的方法學，並嘗試利用此種方法學技術進行刺激反應關聯性規則的驗證。

1.1 肢體刺激誘發神經反射

肢體受刺激時，可經由神經反射在局部與遠部組織產生反應，包括體體神經反射(somato-somatic reflex)、體內臟神經反射(somato-visceral reflex)及體交感神經反射(somato-sympathetic reflex)等反射作用(Sandrini et al., 2005; Sato, 1997; Sato and Schmidt, 1973)。對於傷害性刺激則會誘發逆向神經反射(antidromic reflex)，經由軸突反射(axon reflex)產生局部血管的擴張(Magerl and Treede, 1996; Schmelz et al., 2000; Wong and Fieger,

2010)。這些反射有些是廣泛性的，而有些則具有特異性，也就是只在特定相關部位產生反應；此種特異性的刺激反應關係是本研究擬探討的標的，其中又以體交感神經反射為主軸。

人體四肢與軀幹對傷害性刺激會產生自然的防衛動作，退縮遠離傷害性刺激的來源 (Sandrini et al., 2005)。傷害性刺激會引起防衛警告的反應，對人體產生許多生理調控，如：血壓增高、心跳加速、換氣增加、胃腸與膀胱的活動性減少以及肌肉血管擴張等 (Morrison and Reis, 1989)。研究顯示自四肢肌肉及關節的深部組織所傳入的體感覺神經訊息 (somatosensory input) 會引發體交感神經反射。切除貓的大腦之後，於其左後肢給予傷害性刺激，結果發現受刺激的肢段呈現血管擴張及血流量增加的反應，而在其餘的肢段 (左前肢與右後肢) 則呈現血管收縮及血管阻抗增加的現象 (Cravo et al., 1995)。如果在貓的大腦與脊髓間進行截斷手術，則發現上述傷害性刺激造成的血管擴張反應隨之消失 (Cravo et al., 2003)。推論此種體交感神經反應是利用腦幹進行整合，藉由交感神經的活動來調節血管阻抗，進而影響血流的變化。Cravo 等人整理過去的研究，發現腦幹中的延腦吻端腹外側核 (rostral ventrolateral medulla, RVLM) 的交感神經興奮神經元對身體各肢段有特殊的神經路徑來調節血管收縮張力，進而分別影響各肢段的血流量變化 (Cravo et al., 2003)。

肢體受到刺激所產生的體交感神經反射，是屬於一種交感神經反射弧的作用 (Morrison and Reis, 1989; Sato and Schmidt, 1973)。神經衝動從皮膚或肌肉藉由脊髓內背角神經元 (dorsal horn neuron) 傳遞刺激訊號，經由感覺系統上升傳遞路徑脊髓網狀徑 (spinoreticular tract)，到達延腦吻端腹外側核 (Morrison and Reis, 1989)。再自此核啟動交感神經系統的調控機制，將調控訊號經由網狀脊髓徑 (reticulospinal tract) 向下傳遞到脊髓胸腰椎 T1-L2 的中間側柱 (intermediolateral column) 的交感神經節前神經元，進而經由交感神經系統調節心血管系統的反應 (Morrison and Reis, 1989; 1991)。

過去的研究著重於體表刺激所造成的內臟交感神經反射作用 (Raimondi et al., 1991; Sato and Schmidt, 1973)，以及四肢肌肉反射作用 (Piesiur-Strehlow and Meinck, 1980; Zehr, 2001)；而有關於體表刺激產生體表及肌肉交感神經反射的研究亦僅限於局部或廣泛性的反應 (Cravo et al., 1995; 2003)。至於肢體受到刺激後對遠部的器官組織是否可以產生特異性的交感神經反射作用，則甚少研究予以探討。

1.2 神經反射媒介之血流變化

血液循環系統是維持正常生理狀態非常重要的系統，會即時而動態性提供組織器官所需的養分與移除局部組織所產生的廢物。許多病理狀態往往起因於局部組織的血液循環不良，或伴隨著血液循環的異常 (den Uil et al., 2008; Lockhart et al., 2009; Strain et al., 2012; Struijker-Boudier et al., 2012)。血液循環的調控有很大的部分來自神經系統 (尤其是交感神經)，因此從血液循環的調控切入來探討刺激反應的關聯是一個可行的研究模式。

軸突反射會造成其所支配區域的血管擴張性神經胜肽 (neuropeptide) 之釋放 (Houghton et al., 2006; Magerl and Treede, 1996; Schmelz et al., 2000)，其中以 calcitonin gene-related peptide (CGRP) 與 substance P 最為重要 (Kellogg et al., 1999; Wallengren and Hakanson, 1987; Weidner, 2000)。軸突反射被認為是純週邊的作用 (Groetzne and Weidner, 2010)。軸突反射主要與感覺神經的功能有關，且會受到交感神經活性 (Drummond, 2009; Drummond and Lipnicki, 1999; Hodges et al., 2008; Houghton et al., 2006) 以及一氧化氮基礎濃度的影響 (Houghton et al., 2006; Kellogg et al., 1999)。

血管的張力與血流量主要是由交感神經所調控。過去的研究發現降低血管收縮張力 (vasoconstrictor tone) 可增加皮膚的血流，因此血管的擴張與收縮與交感神經有密切的關係 (Izumi, 1999)。在貓腰椎的交感神經幹進行電刺激，結

果會造成其同側腳部血流量明顯的增加 (Bell et al., 1985)。電刺激於人體腰椎的交感神經節，經由交感神經的調節作用，亦可使腳部血管擴張及血流量增加 (Lundberg et al., 1989)。

許多研究都顯示交感神經會受到局部組織器官的功能需求而改變活性，進而調控血流供應局部組織，而此活性的改變也受到體表刺激後所誘發的體交感神經反射所調控。無論是交感神經活性的調控或體交感神經反射都具有組織及功能的特異性 (Huang and Tsai, 2009; Kerman and Yates, 1999; Morrison, 2001)。在體表某特定部位給予刺激，可興奮支配某些部位與器官的交感神經，但也同時會抑制支配其他部位與器官的交感神經 (Chau et al., 1997)；因此，選擇特定的刺激部位，來對相對應部位與器官的交感神經活性進行標靶選擇性調控是可行的概念。

單一的血管運動神經元 (vasomotor neuron) 會支配特定範圍內的血管，而不同功能群 (functional pool) 的血管運動神經元會支配不同節段的血管，血管運動神經元係以此種方式對支配近端與遠端血管的神經進行不同程度的調控 (Gibbins et al., 2003)。Gibbins 等人認為交感神經調控血管的方式與運動神經控制肌肉的運動神經單元 (motor units) 的概念相似，因此提出「血管運動單元」 (vasomotor units) 或「神經血管運動單元」 (neurovascular motor units) 的概念 (Binder and Mendell, 1994; Gibbins et al., 2003)。在調控血管張力時，選擇性募集適量的血管運動單元可以對血管平滑肌產生不同強度的調控。需增強血管運動輸出 (vasomotor output) 時，是靠著增加募集血管運動單元的數量，而不是增加每個神經元的放電速率 (firing rate) (Jänig, 1988; Macefield et al., 2002)。

體感覺神經受到刺激後會對身體各部位交感神經產生興奮性或抑制性的作用 (Kimura and Sato, 1997)。貓的體表傷害性刺激如捏痛皮膚 (skin pinching)，

會誘發肌肉與內臟血管收縮性交感神經的興奮，但會抑制皮膚收縮性交感神經的傳出 (Jänig and Szulczyk, 1981)。然而，卻在麻醉狀態下的兔子發現完全相反的結果；當在三叉神經所支配的臉部給予傷害性刺激時，支配內臟神經、腎神經及肌肉的交感神經的活性是下降的，支配皮膚血管的活性卻是增高的 (Kumada et al., 1978; Yu and Blessing, 1998)。

因此，從體表給予某種刺激產生體交感神經反射時，訊息經由感覺神經傳入，再經由交感神經傳出，來調節特定部位的血流量，不但可以達到特異性的調控，也可以依照刺激量與刺激時間來產生預期的反應量。

1.3 上下肢之間的神經反射作用

上下肢的解剖結構具有對稱性，且在功能上需互相協調，兩者之間的神經關聯性非常密切，相當適合用來探討刺激反應的關係。身體結構除了依照神經皮節 (dermatome)、肌節 (myotome)、骨節 (sclerotome) 劃分外，許多部位還具有對稱性的分佈關係，例如四肢及軀幹都可分為伸側與屈側。上肢與下肢也有對稱性的結構，上肢分為上臂、前臂及手，下肢也分為大腿、小腿及腳。手有五根手指，腳也有五根腳趾。因此，本研究採用上肢 (前肢) 或下肢 (後肢) 進行刺激，觀察相對應的解剖位置是否可以產生預期的反應。

四肢活動需要相互之間非常即時而緊密的資訊溝通，包括感覺神經 (尤其是本體感覺)、運動神經及交感神經 (與血流之調控有關) 的相互連繫，以便維持有效而正常的肢體運動 (Zehr and Duysens, 2004)。過去的研究著重於上下肢之間的神經路徑關聯性與運動協調作用方面 (Juvin et al., 2005)，對於體交感神經反射較為缺乏。Sherrington 與 Laslett 首先提出肢體間反射 (interlimb reflexes) 的概念；他們利用貓進行實驗，發現頸部與腰部脊髓有反射互相連結 (Sherrington and Laslett, 1903)。Miller 與 van der Meche 提出肢體間反射的主要功能是用來協助動物在行走時前後肢體的協調性 (Miller

and van der Meche, 1976)。接下來有研究將對象轉換到四肢獨立運作的人體身上，發現當刺激腳部皮膚後，可觀察到手臂肌肉的反射 (Piesiur-Strehlow and Meinck, 1980)。Zehr 等人利用電刺激分別刺激手腕的橈神經 (superficial radial nerve) 與足踝的腓骨神經 (superficial peroneal nerve)，觀察身體上下肢肌肉的肌電圖 (EMG) 變化，結果發現人體頸部與腰部脊髓間及肢體兩側間有明顯的肢體間反射 (Zehr et al., 2001)。

關於上下 (前後) 肢之間的解剖對稱部位的關聯性，過去的實驗將大鼠後肢腳踝扭傷，再於前肢對應部位進行電刺激，可顯著改善扭傷所引起的疼痛與水腫 (Koo et al., 2002)。以針灸治療肢體疼痛在上下肢解剖對稱位置也有治療的規則，稱為同名經療法。其對應規則為手腳三條陽經與三條陰經各自依肩關節對腕關節、肘關節對膝關節、腕關節對踝關節，治療位置在痛點之手腳對應的穴位；即上肢痛治療在下肢，下肢痛則治療在上肢 (楊維傑, 2005)。此療法是針灸治療中最具有規則性的針法，非常值得採用其規則來探討針灸的作用機轉，尤其是其與神經系統的關係。

雖然過去的研究已經指出四肢之間存在著包括運動神經與交感神經的反射作用，但上肢與下肢之間的解剖構造與功能相似，而為了達成上下肢之間的動作協調，在解剖對稱部位之間的體交感神經反射，極可能存在著特異性的對應關係。但是，迄今並無任何研究針對此問題加以探討。因此，本研究將探討上下肢之間是否存在特異性的體交感神經反射作用，以及其對應的規則為何。

1.4 研究動機及目的

雖然近年來人們對於致痛物質 (nociceptive substances)、疼痛的訊息處理以及疼痛相關神經系統的功能與結構的了解都有長足的進展 (Vadivelu and Sinatra, 2005)，然而對疼痛治療方面卻仍無很大的改善。疼痛問題仍舊是當今健康與生活品質上的一大課題，根據世界衛生組織 (WHO) 及國際疼痛學會 (the

International Association for the Study of Pain) 的數據顯示，全世界有五分之一的人口受到慢性疼痛的困擾 (Lipman, 2004)。

組織受傷後會合成與釋放致痛物質，誘發一系列的組織反應，包括體液性與神經性的反應 (humoral and neural reactions) (Holzer, 1992; Jenelle and Michael, 2002)。這些疼痛反應是一種組織修復與危險警報的訊號 (Julius and Basbaum, 2001)。許多急性與慢性疼痛都與致痛物質的產生有關，而致痛物質是動物體內自身產生的物質，也可以透過自身的酵素系統予以代謝清除。致痛物質如持續累積在局部組織內，不但產生疼痛的不適感，也會不利於健康。但是，除了採用藥物抑制致痛物質產生或阻斷疼痛訊息的傳遞外 (Chou and Huffman, 2007)，並無藥物用於清除致痛物質。然而，改善局部血液循環可有效使局部組織堆積的致痛物質濃度降低，加速致痛物質的自體代謝，是治療疼痛的另一種有效策略 (Goats, 1994; Tiidus, 1999)。

以藥物治療疼痛會產生許多副作用 (Hippisley-Cox et al., 2005; Sanghi et al., 2006; Zhang et al., 2006)，受傷組織的局部血液循環不良，也會使藥物無法有效到達受傷的組織，因而需使用較大劑量的藥物，使副作用發生機率提高。因此，較無副作用的物理性治療，就成為疼痛治療的另種選擇 (Allen, 2006)。然而物理治療雖較無副作用，但也被認為其療效不如藥物治療。既然許多疼痛與致痛物質的堆積與血液循環不良有關，如能透過體表特定部位的刺激，經由調整交感神經活性來改善血流，則可降低受傷部位致痛物質的濃度，並促進受傷組織的修復。此種特異性類似標靶治療之方式，可針對疼痛與機能失調的部位作調整，而不影響其他部位的功能，不但可降低副作用，效果也可以更為迅速。

一個非常有趣的實驗採用切斷脊髓的大鼠 (spinalized rats) 來探討體表傷害性刺激所誘發的交感神經相關的脊髓中間帶 (intermediate zone) 及背角 (dorsal horn) 的神經元活性改變，其結果顯示相同的刺激對不同身體部位的

交感神經傳出路徑造成不同的影響；即對某些部位產生興奮作用，但卻對其他部位產生抑制作用（Chau et al, 1997; 2000）。在切斷脊髓與大腦的連結後，刺激的訊息不經過大腦的路徑與處理，在傳入背角神經元後，經由脊髓下（infraspinal）體交感神經反射即可傳出交感神經訊息，而且刺激與反應的部位間存在著特異性的部位關聯（topographic relationship），有些是興奮性，有些則是抑制性。

如果體表對體表之間也有特異性部位對部位的刺激反應關聯，而且此種關聯性反應也包括興奮性及抑制性兩種作用機轉，則發展出一套檢測工具，來針對某病理部位可能的對應部位進行檢測，以判斷預測的區域是否發生神經功能改變（被興奮或被抑制），將可應用於臨床上尋找疾病的反應與治療部位。反之，透過被檢測確認的對應部位施予物理性的刺激，如可以反向對原病理部位進行調控，則亦可發展出一套特異性的標靶神經調節技術，應用於臨床上治療各種與神經失調相關的疾病。因此，本研究的主要目標為開發自體表刺激用以評估神經功能的方法，並建立探討特異性神經調節方法之研究模型。研究方法係採用肢體刺激誘發神經反射，經由特異性的血流改變，來探討刺激反應的關聯性。在人體試驗部分，先進行皮膚局部熱充血反應的方法改良，以作為評估交感神經活性變化的非侵入性方法。接著於下肢給予傷害性刺激後，在上肢對應部位以局部熱充血反應測量加熱後血流之改變量，代表軸突反射量的變化；主要目的在於驗證身體上下肢之間是否存在特異性的部位對部位的體交感神經反射作用。此外，以動物實驗經由前肢電刺激誘發體交感神經反射，來觀察後肢缺血的血流變化。因此，本研究結合兩種工具，以人體試驗及動物實驗來探討神經調控的規則，作為未來發展新的神經調節技術之基礎。

第二章 短時間加熱誘發局部熱充血反應之同測期再測信度

2.1 前言

軸突反射是由感覺傳入神經的致敏作用(sensitization)所誘發(Cracowski et al., 2006; Kramer et al., 2004; Tesselaar and Sjöberg, 2011),經由觸發 calcitonin gene-related peptide (CGRP) 和 substance P 的釋放,進而使血管擴張,並使被激活神經元所支配範圍內的血管通透性增加(Wallengren and Hakanson, 1987; Weidner et al., 2000)。在過去的局部熱充血測試方法中,軸突反射充血反應(亦即在體表局部加熱經由軸突反射所媒介之血管擴張)經常與最大血管擴張量一併使用於評估整體血管的內皮功能(Cracowski et al., 2006; Johnson and Kellogg, 2010; Kellogg, 2006; Minson, 2010)。然而,迄今只有少數的實驗針對由軸突反射所引發特異性(specific)之充血反應進行研究(Bonelli and Költringer, 2000; Stansberry et al., 1999)。

在局部熱充血反應裡,血流的變化包含兩大獨立階段:初始高峰(initial peak)期及在出現最低點(nadir)之後所呈現延長的高原期(plateau)(Minson et al., 2001)。文獻指出初始高峰期的產生是受到軸突反射藉由傳入的C型神經纖維逆向神經傳導活化所造成的(Magerl and Treede, 1996; Wong and Fieger, 2010)。軸突反射充血反應受到微血管密度(capillary density)空間異質性的影響(Braverman et al., 1990; Cracowski et al., 2006; Wårdell et al., 1994)。因此,當隨機選取測量位置進行測試時,一般須加熱30分鐘以上,以便從高原期或是最大血管擴張階段取得皮膚血管傳導率(cutaneous vascular conductance, CVC)的高峰值,並將初始高峰期皮膚血管傳導率標準化成為高原期高峰(plateau peak)之百分比或是最大擴張量(maximal dilatation)之百分比,以進行比較(Minson et al., 2001; Roustit et al., 2010a, 2010b; Tew et al., 2011)。

經過兩小時的間隔後，比較第二次與第一次的測試結果，發現初始高峰值會被增強，而高原高峰值則會受到抑制 (Ciplak et al., 2009; Frantz et al., 2012)。再者，此類實驗通常須費時 1-1.5 小時以上，因此若要於短時間內在同一測試者的相同測量位置進行兩次測試，以評估兩次測試間介入的影響是不可行的 (Carter and Hodges, 2011; Caseli et al., 2003; Hodges et al., 2008, 2009; Houghton et al., 2006; Kellogg et al., 1999, 2009; Shastry and Joyner, 2002)。

局部皮膚的微血管密度和感覺神經支配 (sensory innervation) 是局部熱充血反應測試中的兩項關鍵因子。但是在不同測量位置取得的初始高峰值採用最大血管擴張血流值進行標準化，可能只能調整微血管密度的差異，而無法調整皮膚神經密度的差異。Minson 等人 (2001) 採用局部麻醉劑測試了感覺神經對於加熱誘發軸突反射的影響，結果顯示初始高峰值下降了 60%，高於其他因子的影響。基於此一因素，我們提出一個假說；若在同一測試期裡採用固定的測量位置，或將可以同時控制微血管密度和感覺神經支配的差異，因而改善測量的再測信度。由於軸突反射充血反應可於 5 分鐘內誘發出來，較為節省時間，且可降低兩次測試間的順序效應 (order effect) (Ciplak et al., 2009; Frantz et al., 2012)。因此，短時間加熱的測試方法可被運用在探討急性介入或短期治療對同一測試期內於同一測量位置上的軸突反射充血反應的影響。

本研究提出一個修正方法，將加熱時間縮短來對軸突反射充血反應進行評估，並固定測量位置以降低微血管密度和感覺神經支配的差異度。一旦此方法建構完成，將可應用於探討加熱誘發軸突反射的相關因子，亦可檢測兩次局部熱充血測試之間，給予急性物理性與化學性介入的影響。

總而言之，本實驗的目的在於檢測在同一測量位置上，短時間加熱所誘發的軸突反射充血反應是否能在 5 分鐘內的加熱即達到可接受的同測期再測信度，同

時探討短時間加熱局部熱充血測試中，最具再測信度的數據截取與表示方式。

2.2 材料與方法

2.2.1 受試者

本研究於民國民國 99 年 12 月 15 日起至 100 年 12 月 14 日期間透過網站的廣告招募健康的志願者（男女各 10 名），年齡為 20-40 歲。排除有任何明確的神經、心血管、皮膚、精神上的病史、糖尿病、吸煙、懷孕或生產後未滿一個月的受試者，以摒除以上任何影響因素可能造成的偏差。所有的女性志願者皆在非月經來潮時參加此實驗。本實驗獲得台大醫院研究倫理委員會的核准（案件編號：201102005RC），所有受試者在參加實驗前皆填寫了同意書。

2.2.2 實驗設計

實驗當日，所有受試者被要求禁止飲用咖啡、茶、服用藥物、或接受經皮神經電刺激、按摩及針灸，並在實驗開始之前禁食一個小時以上。到達實驗室後，受試者被安排坐在有溫濕度控制的實驗室（濕度 40-60%、溫度 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ）。經過 30 分鐘的環境適應期後，開始進行局部熱充血反應測試共兩次，兩次之間間隔為 45 分鐘（圖 1）。實驗期間的外界氣溫在 $12-23^{\circ}\text{C}$ 之間。

2.2.3 熱充血反應實驗

實驗進行中，受試者全程仰臥於檢查床。皮膚血流量採用雷射杜普勒血流計測量（Moor DRT4, Moor Instruments Ltd., Axminster, Devon, UK）。DRT4 為二極體雷射，有兩個頻道，發射出 780-820 nm 波長的雷射光，紀錄頻寬為 20 Hz。在每一次測試前，先用血壓計測量受試者慣用手的血壓，重覆 3 次。以其平均值當作實驗中一直扣著慣用手中指的持續非侵入性血壓監視器（CareTaker, Empirical Technologies Corporation, Charlottesville, Virginia, USA）之參考值，用以連續記錄實驗過程的血壓值。

測試的位置以預先界定的規則，選定於前臂背面橈側。記錄的位置位於延著肱骨外上髁 (lateral epicondyle of the humerus) 以及橈骨莖突 (styloid process of the radius) 側面兩者之間連線的上四分之一處 (圖 2)，避開有明顯靜脈或是紅斑 (erythema) 的區域。在以塑膠固定器 (holder) 支撐的皮膚加熱探頭 (SHP2 probe, Moor Instruments Ltd., Axminster, Devon, UK) 中央，我們放置了 1 mm 量測深度的單點式探頭 (DP12-V2 probe) 來記錄血流量。固定器以雙面膠固定於皮膚。每天開始實驗前，雷射探頭都會採用製造商所提供的校正液及校正方法進行校正。體表溫度採用加熱器 SH02 (Moor Instruments Ltd.) 控制在 33°C 的常溫 (Minson et al., 2001)，以 5 分鐘的時間測量基礎血流量，接著每 10 秒溫度提升一度，從 33°C 上升到 42°C，持續 5 分鐘。檢測完畢之後，固定器保留在原位置，45 分鐘後再重覆一次相同的檢測程序。

2.2.4 資料分析

局部皮膚血流量採用皮膚紅血球流量 (red blood cell flux, RBCF)，以流量單位 PU (perfusion unit) 表示來計算。血流量的變化則以 CVC (PU/mmHg) 作評估。考慮到血流會受到血壓的影響，因此 CVC 採用紅血球流量除以平均動脈壓來校正血壓的影響 (O'Leary, 1991)。

MoorSOFT 軟體 (Moor Instruments Ltd.) 提供了定時定值的低通濾波器 (14.9 kHz, 0.1 sec)，可以即時監控所記錄血流量訊號的趨勢 (圖 3)。未經處理的血流量訊號輸出至 Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA)，接著進行後續離線分析，利用內建函數與試算表來計算統計分析所需的數據。

為了選出最適合用於分析和使方法最佳化的數據期間，本研究針對不同期間的血流量數據分別進行計算與分析。在測量基礎血流 (baseline CVC) 的 5 分鐘期間，評估了兩個期間的血流量，包括 1.5-3.0 分鐘的平均 CVC 及加熱前最後兩

分鐘的平均 CVC (圖 4)。在加熱期間則分析了兩個 peak CVC 值，包括在高峰前後 30 秒和 60 秒的平均 CVC 值，還有評估 4 分鐘與 5 分鐘曲線下面積 (area under the curve, AUC)。

baseline CVC、peak CVC、peak CVC 改變量、peak CVC 改變百分比、AUC 及 time to peak (到達高峰流量的時間) 均用來作為加熱時熱充血反應的指標。peak CVC 改變量定義為 peak CVC 減 baseline CVC，peak CVC 改變百分比等於 peak CVC 改變量除以 baseline CVC 乘以 100%。AUC 是加熱時期血流量的總累積，time to peak 是從加熱到高峰值所花費的時間。

2.2.5 統計分析

所有數據都以平均值 \pm 標準差 (mean \pm SD) 表示，數據分析採用 SPSS 17.0 套裝軟體 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)。本研究採用個案內變異係數 (within-subject coefficient variation, CV) 和組內相關係數 (Intraclass correlation coefficient, ICC[2,1]) 來評估熱充血反應數據的再測信度 (Agarwal et al., 2010; Bland, 2000; Roustit et al., 2010a, 2010b; Tew et al., 2011)。

CV 值採用均方根法 (root mean square method) 計算，而 CV 值小於 10%、介於 10-25% 及大於 25% 分別表示良好、中等及不良的再測信度 (Iellamo et al., 1996)。CV 值計算公式如下：

$$\text{個別受測者 CV 值: } CV_j = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (y_{ij} - \hat{y}_j)^2}}{\hat{y}_j} \times 100$$

其中 y 為血流參數， \hat{y} 為血流參數平均，受測者個數 $j=1 \cdots m$ ，測量次數 $i=1 \cdots n$ 。

$$\text{整體 CV 值: } CV = \frac{\sqrt{\sum_{j=1}^m CV_j^2}}{m}$$

ICC 值則採用 two way random effect model approach 來計算，而 ICC 值大於 0.75、介於 0.40-0.75 及小於 0.40 分別表示良好、中等及不良的同意度

(agreement) (Landis and Koch, 1977)。ICC 值計算公式如下：

$$\text{ICC} = \text{個案變異量} / \text{總變異量} = \text{個案變異量} / (\text{組內變異量} + \text{個案變異量}) = (\text{MSbetween} - \text{MSwithin}) / (\text{MSbetween} + [k - 1] \text{MSwithin})。$$

其中 MSbetween 為組內變異量的均方估計 (mean square estimate)，MSwithin 為個案變異量的均方估計，k 為受測者人數。

先前我們以 8 名志願受試者於兩天內進行了在兩個測試位置檢測兩次的前導性研究。結果顯示，以 peak CVC 分析的 ICC 值為 0.54-0.90，平均為 0.78。如果將估計 ICC 值定為 0.78，而可接受 ICC 值設定至少達 0.4 以上，則計算出來的樣本大小，估計需要的人數是 18 人 ($\alpha=0.05$, $\beta=0.2$) (Walter et al., 1998)。在考慮可能有缺漏數據 (missing data) 的風險後，本研究共收錄受試者 10 名男性及 10 名女性。

2.3 結果

2.3.1 受試者

受試者的基本資料如表 1。所有受試者血壓均正常，男性的身高較女性為高，體重亦較重 ($P < 0.05$)，男女性的年齡和平均動脈壓均無顯著差異。

2.3.2 CVC 數據

從 1.5-3.0 分鐘取得的 baseline CVC 數據平均與 3.0-5.0 分鐘的數據平均並無差異，從血流高峰值 30 秒範圍內的平均值計算所得的 peak CVC 與 60 秒的平均值也沒有差異 (資料未顯示)。因此在後續的分析中，我們只使用 1.5-3.0 分 baseline CVC 平均值和血流高峰值 30 秒範圍內的 peak CVC 平均值來進行分析。結果顯示，第一次與第二次測試的各種 CVC 數據在任何測量點均無不同 (表 2)，但是第二次測試的 baseline CVC 值較低，其 SD 也較第一次者略小。在第一次與第二次測試中，各測量點到達高峰血流量所花費的時間為 90-209 秒，平均

151.1 ± 36.8 到 167.2 ± 33.4 秒。因為所有的高峰血流量皆在加熱 4 分鐘前達到，因此同測期再測信度採用 4 min AUC 作為計算的基準。

2.3.3 再測信度

同測期再測信度的數據如表 2 所列。數據顯示 baseline CVC、peak CVC 改變百分比以及 time to peak 的再測信度不佳。同時採用 CV 和 ICC 來評估，peak CVC (CV = 16.02-17.31%, ICC = 0.77-0.78)、peak CVC 改變量 (CV = 14.30-18.12%, ICC = 0.80-0.86)，還有 4 min AUC (CV = 18.37-18.70%, ICC = 0.60-0.78) 的再測信度是可以接受的。男性和女性在再測信度上並無差異 (資料未顯示)

2.4 討論

本研究的目的是在於探討短時間加熱誘發軸突反射充血反應的再測信度。我們的研究發現短時間 5 分鐘加熱，以單點式雷射杜普勒血流計進行局部熱充血測試的 peak CVC、peak CVC 改變量、及 4 min AUC 的同測期再測信度達到可接受的程度。同時結果也顯示達到高峰血流量的時間皆少於 210 秒。因此，2-3 分鐘的基礎測量與 4 分鐘的加熱已可取得足夠的數據作分析。此方法中，加熱溫度保持在 42°C 的時間只有 2.5 分鐘 (也就是加熱期的第 90-240 秒)，因此所誘發的熱充血時間較短，且較快恢復。在我們的實驗方法裡，加熱僅有 5 分鐘，initial peak 的測量可能可以防止第一次和第二次加熱的順序效應 (Ciplak et al., 2009; Frantz et al., 2012)。每個測量位置的測試時間只需 6-7 分鐘，此省時之方法可以讓測試者無需增加儀器數量，亦可依序檢測較多的部位。

因為固定器和探頭都放在固定位置，在兩次的測試裡血管密度的空間差異度和感覺神經的支配分佈並無改變。除了受到血管密度和感覺神經支配的影響之外，軸突反射充血反應還會受到交感神經的活性 (Drummond, 2009; Drummond and Lipnicki, 1999; Hodges et al., 2008; Houghton et al., 2006) 以及一氧化

氮基礎濃度 (Houghton et al., 2006; Kellogg et al., 1999) 的影響。根據本研究的再測信度分析結果顯示，在兩次測試中，30 分鐘的環境適應配合 45 分鐘的間隔時間，就可以控制交感神經與一氧化氮對此測試的影響。就我們所知，本研究是第一個證明使用單點式雷射杜普勒血流計進行單純軸突反射充血反應的測量中可獲得足夠的再測信度，而且無需收集與使用以往長時間加熱方法的數據。

雖然局部熱充血反應測試是在定點進行檢測，皮膚的溫度也保持在 33°C，但 baseline CVC 還是有較大的變異性 (表 2)。此表示 baseline CVC 容易受到生理狀態的影響，而不完全歸因於血管密度的空間變異。baseline CVC 和 peak CVC 改變百分比的再測信度在此研究中未達可接受的程度，此結果與之前發表的報告相吻合，過去的研究顯示當數據以 baseline CVC 或者與 baseline CVC 相關的如 peak CVC 改變量與 peak CVC 改變百分比 (Agarwal et al., 2010; Roustit et al., 2010a, 2010b; Tew et al., 2011) 表示時，再測信度都不佳。

在隨機的檢測位置以單點式雷射杜普勒血流計施行局部熱充血反應測試的再測信度不佳 (Roustit et al., 2010a)，如果改用整合式探頭 (integrated probe) (Tew et al., 2011)、雷射杜普勒影像儀 (Laser Doppler Imager, LDI) 或是雷射光斑對比成像儀 (Laser speckle contrast imager, LSCI) (Roustit et al., 2010b)，則可以提升再測信度，其原因為加大測量範圍可降低測量數據的變異性。但是整合式探頭加上加熱探頭 (PeriMed PH13 為 34 mm) 或者 LDI/LSCI 加熱探頭 (Moor SHP3 為 35 mm)，其面積比單點式探頭搭配加熱探頭 (Moor PH1-V2 為 22 mm) 大得多，因此在頭部、軀幹及四肢上的一些不平整區域，及小面積的位置如手指、腳趾，會造成使用上的限制。因此，單點式探頭因為其較小的尺寸，依然有其佔優勢之處。

以往使用的方法在不同的測量部位檢測整體血管內皮功能，而在數據分析時

會調整血管密度的空間差異，但感覺神經支配的差異性往往被忽略 (Caseli et al., 2003; Hodges et al., 2008, 2009; Houghton et al., 2006; Kellogg et al., 1999, 2006; Shastry and Joyner, 2002)。所以，當對同一受試者進行單純軸突反射充血反應測試時，短時間加熱方法較為合適，原因在於此方法對於血管密度與感覺神經支配皆有良好的控制。本實驗的兩次測試是在同一天使用固定器固定測量位置，此方法能否適用於移除固定器後，經過一段時間再重覆測試，尚需進一步實驗來探討。

在實驗的限制考量方面， 17β -estradiol 與 progesterone 皆有可能單獨加強皮膚的熱充血反應 (Brunt et al., 2011; Charkoudian et al., 1999)，研究結果也顯示從少年到老年時期，最大血管擴張量會隨著年齡增加而逐漸減少 (Martin et al., 1995)。但本研究在短時間對同一個受試者進行固定位置的檢測，並且只採用 initial peak 的數據，因此女性生殖荷爾蒙和老化因素較不可能影響到本研究的結果。

總結而言，在兩側前臂的背側以單點式雷射杜普勒血流計進行短時間加熱誘發軸突反射的同測期再測信度，已達到可接受的範圍。同一時段的測試與再測試時間間隔可縮短至 45 分鐘，因此有機會用於評估急性物理性或化學性介入對皮膚局部加熱誘發軸突反射的影響。此方法可能有助於探討在局部加熱誘發軸突反射充血反應之生理病理意義，或許亦可應用於日後研究或者臨床上。

2.5 圖表

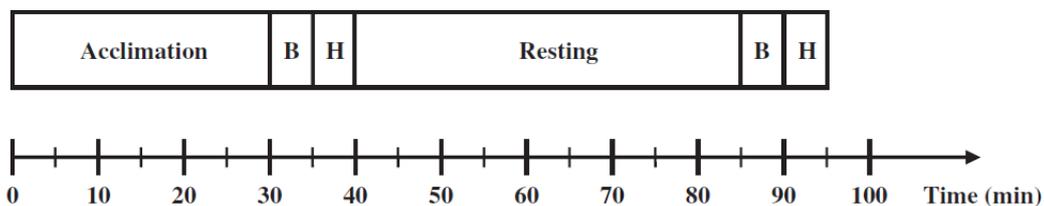


圖 1 實驗進程序序。實驗設計為環境適應 (acclimation) 30 分鐘後進行兩次測試，兩次之間休息 (resting) 45 分鐘。每次測試包括以加熱器維持 33°C 測量基礎血流量 5 分鐘 (B)，以及從 33°C 快速加熱到 42°C 共 5 分鐘 (H)。

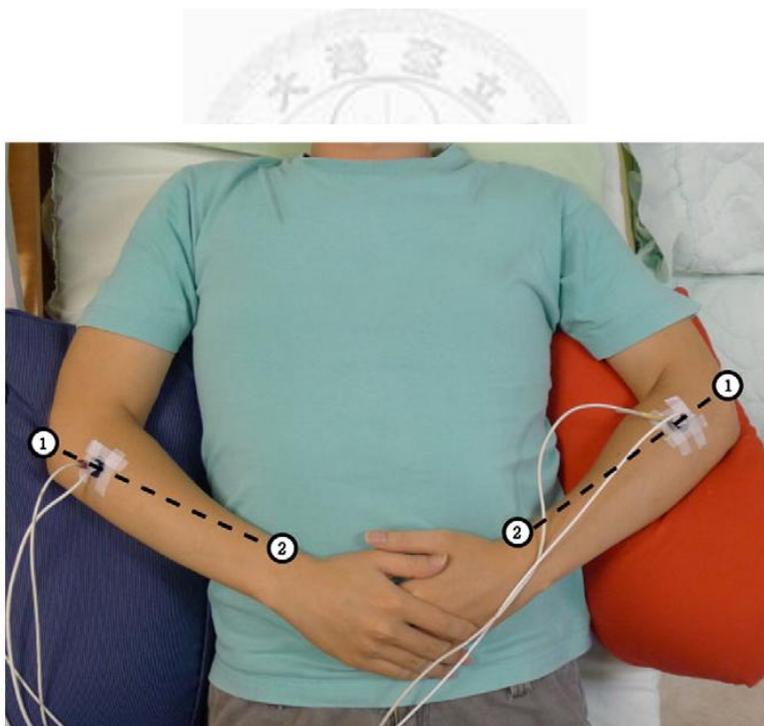


圖 2 測量部位的解剖位置標記。測量位置位於兩側前臂肱骨外上髁 (1) 與橈骨莖突外側 (2) 連線的上四分之一處。

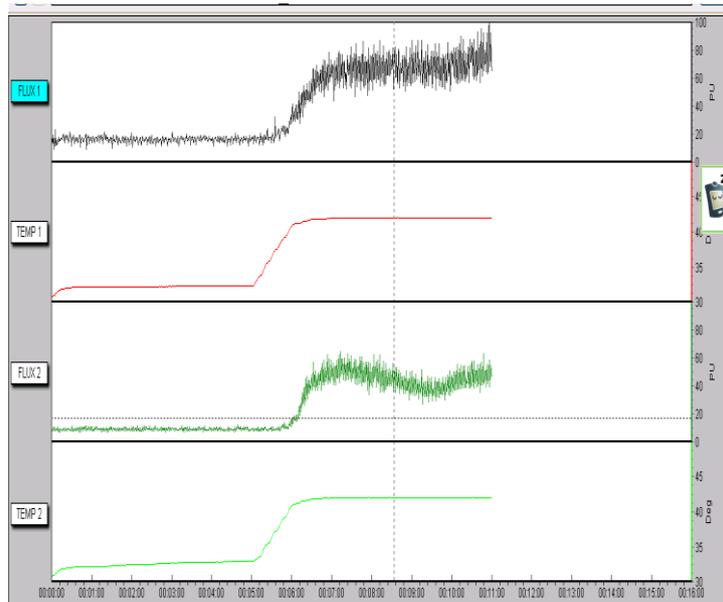


圖 3 五分鐘體表加熱程序的血流與溫度變化情形。FLUX 1 及 TEMP 1 為左側測量部位的血流及溫度，FLUX 2 及 TEMP 2 為右側測量部位的血流及溫度。

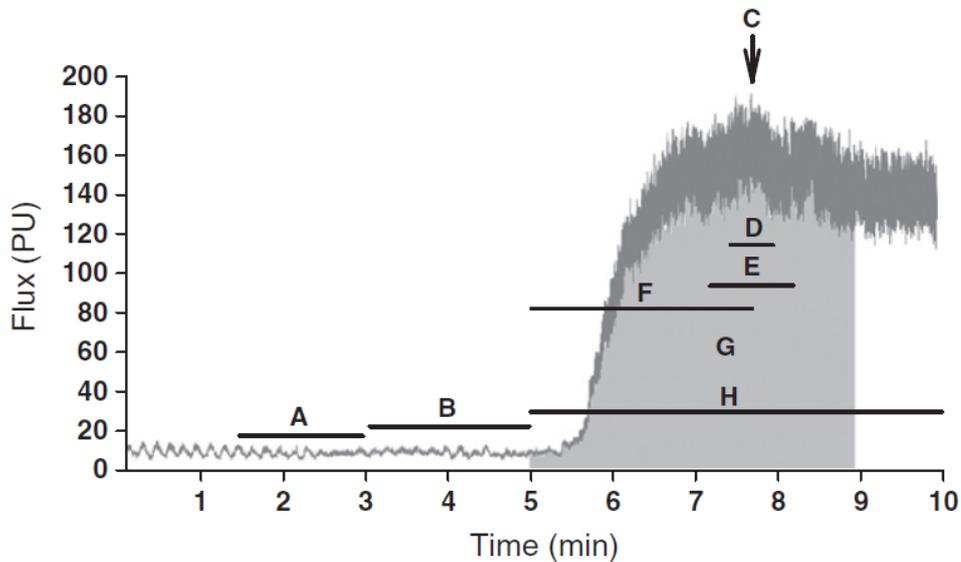


圖 4 五分鐘體表加熱程序的血流改變代表值。A-G 分別代表各數據分析的期間。
 (A) 1.5-3.0 分鐘 baseline CVC，(B) 3.0-5.0 分鐘 (加熱前 2 分鐘) baseline CVC，(C) 高峰血流值 (peak flux)，(D) 30 秒平均之 peak CVC，(E) 60 秒平均之 peak CVC，(F) 到達高峰血流之時間 (time to peak)，(G) 4 分鐘曲線下面積 (4 min AUC)，(H) 加熱期間。

表1 男性與女性受試者基本資料

	男性 (n=10)	女性 (n=10)
年齡 (years)	24.7±4.1	26.1±3.4
身高 (cm)	171.8±6.2	160.8±4.4*
體重 (kg)	66.8±9.2	53.8±9.0*
平均動脈壓 (mm Hg)	80.9±5.2	75.5±5.5

數據以means ± SD表示。*表示男性與女性比較 $p < 0.05$ 。

表2 不同數據呈現方式的局部熱充血反應再測信度

數據	測量位置	第一次測試	第二次測試	CV (%)	ICC
Baseline CVC	右側	0.27 ± 0.20	0.20 ± 0.08	41.38	-0.04
	左側	0.25 ± 0.18	0.21 ± 0.11	31.59	0.48
Peak CVC	右側	2.13 ± 0.54	2.10 ± 0.53	16.02	0.77
	左側	1.89 ± 0.55	1.85 ± 0.63	17.31	0.78
Peak CVC change	右側	1.87 ± 0.56	1.90 ± 0.51	14.30	0.86
	左側	1.64 ± 0.55	1.64 ± 0.62	18.12	0.80
% peak CVC change	右側	973 ± 535	1037 ± 395	41.74	0.56
	左側	819 ± 347	888 ± 342	34.84	0.75
4 min AUC	右側	30.7 ± 7.5	29.2 ± 7.2	18.70	0.60
	左側	26.0 ± 8.0	25.5 ± 9.4	18.37	0.78
Time to peak	右側	167.2 ± 33.4	163.7 ± 44.6	21.38	0.31
	左側	165.5 ± 38.8	151.1 ± 36.8	17.51	0.43

peak CVC 的單位為 AU/mmHg。4 min AUC 的值需乘以 1000。Time to peak 的單位為 sec。CV 為 coefficient of variation(%), ICC 為 intra-class correlation coefficient。

第三章 環境適應期間延長對短時間加熱誘發局部熱充血反應 不同測期再測信度之影響

3.1 前言

在遭受傷害性刺激時，軸突反射會因傳入性的 C 型神經纖維被活化而引發 (Magerl and Treede, 1996; Schmelz et al., 2000; Wong and Fieger, 2010)。同時軸突反射一般也被認為是客觀評估感覺神經功能的工具 (Bickel et al., 2009; Krishnan and Rayman, 2004; Krishnan et al., 2009)。軸突反射充血反應可由局部皮膚加熱引發 (Krishnan and Rayman, 2004; Minson et al., 2001)。在不同部位中，微血管密度有相當大的變異性 (Braverman et al., 1990; Cracowski et al., 2006; Wårdell et al., 1994)，而且要精確地在相同的皮膚部位進行測試亦相當困難。所以，先前所使用的長時間加熱程序都採用最大血管擴張量來作初始高峰值的標準化，以便進行比較 (Cracowski et al., 2006; Johnson and Kellogg, 2010; Minson, 2010; Minson et al., 2001)。

使用單點式雷射杜普勒血流計測試隨機選取的部位時，在調整微血管密度變異性之後，局部熱充血反應於指腹 (finger pad) 獲得可接受的再測信度，然而，於前臂的再測信度則不足 (Roustit et al., 2010a)。此種再測信度的變異性可以歸因於隨機選取測試部位時，並未考量另一個軸突反射充血反應的重要決定因素，也就是感覺神經纖維之密度。採用局部麻醉劑阻斷感覺神經，可使快速加熱誘發軸突反射之反應降低 60% (Minson et al., 2001)。此顯示相較於其他因素，感覺神經纖維之密度對於軸突反射充血反應具有更大的影響。

在局部熱充血反應測試開始之前，環境適應期長度對於生理狀態的穩定與否扮演了相當重要的角色 (Agarwal et al., 2010; Roustit et al., 2010a, b; Tew et al., 2011)。影響熱誘發軸突反射反應的主要生理因素包括了交感神經活性

(Drummond 2009; Drummond and Lipnicki, 1999; Hodges et al., 2008; Hodges et al., 2009; Hornyak et al., 1990) 與一氧化氮的基礎濃度 (Houghton et al., 2006; Kellogg et al., 1999; Kellogg et al., 2009)。然而，迄今我們仍不了解若要控制這些因素，適切的环境適應時間需多長。一些再測信度研究曾採用短如 20-30 分鐘的环境適應期 (Agarwal et al., 2010; Roustit et al., 2010a, b)，但在其他的研究，卻採用了長達 90 分鐘的环境適應期 (Tew et al., 2011)。我們的同測期實驗進行了五分鐘的短時間加熱，當測試部位以固定器固定，且兩次測試之間距 45 分鐘，則給予 30 分鐘的环境適應期即可使軸突反射充血反應具有好的再測信度 (Huang et al., 2012)。然而，若給予 30 分鐘的环境適應期、延長測試間距、且每次將測試部位重新定位，短時間加熱局部熱充血反應測試是否仍具有好的再測信度，則仍不清楚。我們假設增長環境適應期間，由於減少生理變化，應可呈現更好的再測信度。

雖然相較於使用單點式雷射杜普勒血流計 (Roustit et al., 2010a)，使用整合式探頭 (Tew et al., 2010)、雷射杜普勒影像儀或雷射光斑對比成像儀 (Roustit et al., 2010b) 可增大測試範圍來提升再測信度，但這些儀器的探頭過大，不適於應用在不平整的部位，如臉部、關節、手指、和腳趾。

為了改善上述的缺點，此研究使用相同的測試部位，使感覺神經變異性降至最低，同時我們採用不同長度的環境適應期，並使用單點式雷射杜普勒血流計來探討短時間加熱誘發軸突反射充血反應的再測信度。總而言之，本研究的主要目的為檢視若採用相同的測試部位、僅加熱五分鐘、且給予不同長度的環境適應期，軸突反射充血反應（也就是局部熱充血反應的初始高峰值）的不同測期再測信度是否能達到可接受的標準。此外，對於測試短時間加熱局部熱充血反應，我們亦探究再測信度最佳的資料收集與資料呈現形式。

3.2 材料與方法

3.2.1 受試者

透過網站廣告，本研究於民國 99 年 12 月 15 日起至 100 年 12 月 14 日期間招募年齡 20-40 歲、不吸菸的健康受試者（男女各 24 名）。受試者條件與第二章所述相同（頁數 12）。本研究獲得台大醫院研究倫理委員會的核准（案件編號：201102005RC），所有受試者於參與試驗前皆填寫同意書。

3.2.2 實驗程序

實驗當天，我們要求所有受試者不可攝取茶葉、咖啡、服用藥物，或進行經皮神經電刺激、按摩、和針灸，受試者亦須於實驗開始一小時前禁食。受試者抵達實驗室後，進入有溫濕度控制的房間裡（濕度 40-60%、溫度 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ）。受試者隨機分配至 30 或 60 分鐘環境適應組（每一組 $n=24$ ，男女比例平均）。經過 30 或 60 分鐘的環境適應後，開始進行局部熱充血反應測試（此為測試第一天）。一至三天後，重複相同測試（此為測試第二天）。實驗期間，室外氣溫大約為 $12-23^{\circ}\text{C}$ 。

測試進行時，皮膚加熱、血流量測量位置與方式與使用的儀器都與第二章先前所述之實驗相同，每次測試中，血壓值都依照前一章所描述的方法量測。為模擬實際使用情況，我們於第一天實驗結束後移除固定器。一至三天後相同時間，依照預先界定的相同規則重新選定測試部位，我們重複與第一天相同的步驟進行實驗。

3.2.3 資料分析

皮膚血流資料的擷取、計算與分析都和前一個實驗相同。在為期五分鐘的基礎血流測量中，我們採用開始加熱前兩分鐘的平均 CVC（圖 1）。血流量高峰值定義為開始加熱起 90-210 秒中的最大值。peak CVC 定義為高峰血流量前後共 60

秒的 CVC 平均值。

本實驗分析的局部熱充血反應測試指標包括 baseline CVC、peak CVC、peak CVC 改變量、peak CVC 改變百分比、以及 4 min AUC。

3.2.4 統計分析

本研究所有數據皆以平均值 \pm 標準差表示，且皆採用 SPSS 17.0 套裝軟體分析 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)。局部熱充血反應再測信度評估與前一實驗相同，採用個案內 CV 與 ICC[2,1] 進行評估 (Agarwal et al., 2010; Bland, 2000; Donald et al., 2008; Roustit et al., 2010 a,b; Tew et al., 2011)，再測信度標準也相同。除此之外，針對具有好的再測信度的數據，我們進一步計算了測量的標準誤 (standard error of measurement, SEM) 與最小可偵測改變量 (minimal detectable change, MDC)。SEM 為 pooled SD 乘以 $(1-ICC)$ 的平方根，因為 $n=24$ ，MDC 為 SEM 乘以 2 的平方根再乘以 1.96 (Guyatt et al., 1987)。

根據我們的同測期研究數據，使用 peak CVC 的變化進行分析，得出 ICC 值為 0.80-0.86，平均為 0.83 (Huang et al., 2012)。我們期望 ICC 的不同測期再測信度可達 0.75、且可接受的 ICC 至少須為 0.40，因此各組需要的受試者預估數量為 22 人 ($\alpha=0.05$, $\beta=0.2$; Walter et al., 1998)。在考慮可能有缺漏數據的風險後，本研究的 30 分鐘及 60 分鐘環境適應期兩組各收錄了 24 位受試者 (12 名男性及 12 名女性)。

3.3 結果

3.3.1 受試者

受試者基本資料分析如表 1。所有受試者血壓均正常。30 分鐘及 60 分鐘環境適應期兩組比較，無論是年齡、身高、體重、及休息時平均動脈壓皆無顯著的差

異 ($P > 0.05$)。

3.3.2 CVC數據

CVC數據中，無論在測試第一天和第二天之間、或30分鐘及60分鐘環境適應期兩組之間，包括baseline CVC、peak CVC、4 min AUC等皆無顯著差異（資料未顯示）。在測試第一天和第二天加熱實驗中，各測試部位的time to peak介於92-209秒，且平均值介於 143.8 ± 35.7 到 165.3 ± 30.1 秒。所有的高峰血流量皆在加熱4分鐘前達到，因此採用4 min AUC進行再測信度分析。

3.3.3 再測信度

表2為30分鐘及60分鐘環境適應期組的不同測期之再測信度。結果顯示，對於30分鐘環境適應期組，右前臂的peak CVC和peak CVC改變量以及左前臂time to peak的再測信度皆可接受。對於60分鐘環境適應期組，無論是右或左前臂數據皆達到可接受的標準。無論在30或60分鐘環境適應組中，4 min AUC在右側都有良好再測信度，左側再測信度都不佳。Baseline CVC與peak CVC改變百分比無論在30或60分鐘環境適應組中再測信度都不好。

表3為兩次測試中測試部位具有可接受再測信度的資料表示方式，資料包括在30或60分鐘環境適應組的peak CVC、peak CVC改變量、time to peak、及4 min AUC。此表也同時呈現了各測試部位參數的平均差異、SEM、及MDC。

3.4 討論

本研究的目的是為探討短時間加熱誘發軸突反射充血反應在不同長短環境適應期下的不同測期之再測信度。研究結果顯示，使用單點式雷射杜普勒血流計對相同測試部位加熱五分鐘，其短時間加熱局部熱充血反應的不同測期再測信度達到可接受之標準，且無須如同先前採用的長時間加熱程序一般，對最大血管擴張量進行標準化處理 (Cracowski et al., 2006; Johnson and Kellogg, 2010;

Minson, 2010; Minson et al., 2001)。給予 30 分鐘的環境適應期後，右前臂的 peak CVC、peak CVC 改變量、及 4 min AUC，與左前臂的 time to peak 皆達到可接受之再測信度。此外，除了發現左右前臂的再測信度不同，我們進一步證明了給予較長的环境適應期（60 分鐘）可提高其再測信度。

3.4.1 測試部位與感覺神經支配

軸突反射會受到感覺傳入纖維的活化而引發，但在過去的研究所採用的程序中，隨機選取測試部位時的感覺神經傳入支配變異性卻未予以控制，反而是採用最大血管擴張量將初始反應進行標準化處理 (Cracowski et al., 2006; Johnson and Kellogg, 2010; Minson, 2010; Minson et al., 2001)。引發軸突反射充血反應的傳入性 C 型神經纖維是屬於機械不敏感性 (mechano-insensitive) C 型纖維，因而被稱為沉默的傷害性受體 (silent nociceptors) (Schmidt et al., 2002; Stansberry et al., 1999)。CGRP 與 substance P 的釋出會活化軸突反射充血反應，並擴張血管、提升活化神經元支配範圍的血管通透性 (Wallengren and Hakanson, 1987; Weidner et al., 2000)。小腿上單一機械不敏感性感覺神經元的支配範圍大小的中值大約是 5.34 cm^2 (Schmidt et al., 2002)。對於前臂上每一根毛髮，因毛髮摘除而誘發的軸突反射充血反應面積平均為 $1.76 \pm 1.76 \text{ cm}^2$ (Wallin et al., 2001)。根據此數據，感覺神經的支配範圍可能延伸到相當廣泛的區域，但是機械不敏感性纖維的支配範圍顯得不規律，且分佈不均勻 (Schmidt et al., 2002)。因此 Roustit 等人從左前臂上部內側隨機選取了兩處相隔五公分的皮膚測試部位，發現在同一測期實驗中，此二測試部位的 peak CVC 再測信度不佳 ($CV = 53\%$, $ICC = 0.34$; Roustit et al., 2010a)。而且他們隨機選取測試部位的不同測期再測信度，以 peak CVC 表示仍然不佳 ($CV = 57\%$, $ICC = 0.72$)。採用局部麻醉劑阻斷感覺神經後，peak CVC 佔最大血管擴張量的百分比從 $75 \pm 3\%$ 降至 $32 \pm 2\%$ (Minson et al., 2001)。這代表加熱誘發 peak CVC 的影響因素中，感覺神經可能是主要的因素，然而也不能排除如微血管密度

之類因素的影響。在皮膚的兩個相鄰測試部位之間的微血管密度也存有變異，過去的實驗證明在無加熱的狀態下，將探頭移動 2-6 mm 就會影響血液流量達 100% (Braverman et al., 1990)。此外，要將單點式探頭準確地放置在同一位置來重複進行實驗亦相當困難。因此，在我們的研究中微血管密度也是有變異性的。我們的研究結果具有可接受且更好的不同測期再測信度，這表示藉由使用預先界定的定位規則來重新定位相同的測試部位，可以使感覺神經支配的變異性降低，同時也顯示微血管密度變異的影響度可能比感覺神經支配為低。

3.4.2 環境適應期

在局部熱充血反應的研究中，環境適應期的長短可能會影響測試結果與再測信度。在本研究的不同測期實驗中，欲獲得可接受的局部熱充血反應再測信度，環境適應期需增加至 60 分鐘，但我們先前的實驗結果顯示，對於以固定器固定測試部位的同測期實驗，給予 30 分鐘的環境適應期已經足夠 (Huang et al., 2012)。除此之外，重新定位測試部位可能會導致某些微血管密度與感覺神經支配的差異，同時生理狀況的不同日之間的變化可能比同日之內的變化為大。因此，為了達到較為穩定且相似的生理狀況，較長的环境適應期是必要的。本實驗首次證明了若要在局部熱充血反應實驗前穩定生理狀況，較長的环境適應期 (60 分鐘) 是必要的。這可能歸因於交感神經活性和一氧化氮的基礎濃度的影響。我們在此呈現的結果與 Tew 等 (2011) 的實驗結果一致：在年輕與年長的成人身上，Tew 等人使用雷射杜普勒血流計並給予 90 分鐘的環境適應期，獲得良好的皮膚熱充血反應不同測期再測信度

3.4.3 再測信度的側化 (lateralization)

從我們的實驗結果中發現 peak CVC、peak CVC 改變量、及 4 min AUC 皆只在 30 分鐘環境適應期組的右前臂達到可接受的再測信度。相對的，僅在 30 分鐘環境適應期組的左前臂上獲得可接受的 time to peak 再測信度。因局部熱充血

反應主要由傷害性傳入神經纖維所誘發，左右手不同的再測信度可能歸因於感覺神經功能的側化。雖然左手的熱痛閾值 (heat pain threshold) 比右手低 (Lugo et al., 2002; Sarlani et al., 2003)，但左右前臂之間的熱痛閾值卻無顯著的差異 (Long, 1994; Taylor et al., 1993)。至今我們仍不清楚是否手部的熱痛閾值比前臂高會造成右側的熱痛閾值顯著大於左側的側化現象只發生在手上而不發生在前臂 (Taylor et al., 1993)。再者，熱痛閾值與加熱誘發軸突反射充血反應間的關係依然未明。因此，在 30 分鐘環境適應期組中，導致局部熱充血反應的左右前臂再測信度不同的機制仍有待進一步研究。

既然在 30 分鐘環境適應期組中 peak CVC、peak CVC 改變量、及 4 min AUC 皆於右前臂達到可接受再測信度，為了節省時間，可以嘗試只測量右前臂的短時間加熱局部熱充血反應，而不進行左前臂之測量。

3.4.4 實驗考量

金屬製的加熱探頭其外徑為 8 mm，測量雷射探頭則置於孔洞中央。後小動脈 (metarterioles) 是在加熱過程中皮膚血流產生雙相別流量反應 (biphasic flow response) 的來源 (Widmer et al., 2008)。對皮膚加熱會導致後小動脈擴張，進而被動地增加皮膚血流。因此，血流的增加可能受灌注血管擴張以及軸突反射血管擴張兩者的影響。

雖然採用較大的測試面積可以提高局部熱充血反應的再測信度，但是對於測量較小及不平整的皮膚區域，如手指，單點式雷射杜普勒血流計仍是較佳的選擇 (Roustit et al., 2010a)。當隨機選取前臂測試部位時，使用單點式雷射杜普勒血流計測量局部熱充血反應的 peak CVC 再測信度不佳 (CV = 57%, ICC = 0.72) (Roustit et al., 2010a)。若採用不同的工具並增大測試面積，如利用整合式探頭 (CV = 15-19%, ICC = 0.69-0.84) (Tew et al., 2011) 和雷射光斑對比成像儀 (CV = 15%, ICC = 0.48) (Roustit et al., 2010b)，皆在隨機測試部

位獲得可接受的 peak CVC 再測信度。這些數據顯示，使用整合式探頭、雷射杜普勒影像儀、或雷射光斑對比成像儀取代單點式雷射杜普勒血流計可以進一步提高短時間加熱局部熱充血反應再測信度。然而，因為單點式探頭合併加熱探頭及固定器的尺寸較小（Moor PH1-V2 直徑為 22 mm），對於像是臉部、關節、手指、或腳趾等不平整區域的量測較佳。雷射杜普勒影像儀或雷射光斑對比成像儀的加熱探頭（Moor SHP3 直徑為 35 mm），以及整合式探頭合併加熱探頭（PeriMed PH 13 直徑為 34 mm）使用於這些不平整區域上極為困難。

對於特定的族群，若採用相同的測試部位並標準化局部熱充血反應參數的正常值範圍，無論在實驗或臨床用途，皆有利於比較不同研究間及不同受試者間的數據。MDC 可當作是能鑑定顯著變化的閾值（Jette et al., 2007）。在研究及臨床上判定結果是否有顯著改變，其改變量必須比該部位測得的 MDC 大。本研究所測得各測試部位的 MDC 可供其他使用相同測試部位、相同短時間加熱程序、和相同設備的研究作為參考。但是這些資料可能無法用於推斷病人之狀況，因為本研究中不包含患病的受試者。

因為本研究僅對正常的志願者進行試驗，此程序是否適合使用於長期追蹤患有感覺神經相關或交感神經功能障礙相關疾病之病患，仍須進行進一步之評估。此外，亦有研究指出 17β -estradiol 和 progesterone 可分別增強皮膚充血反應（Brunt et al., 2011; Charkoudian et al., 1999），且局部熱充血反應的初始高峰值在老年受試者身上會降低（Minson, 2002）。因此，對於女性生殖荷爾蒙及老化可能對此段時間加熱程序造成的影響，仍須進行更深入之探究。

結合過去研究及本實驗的數據，可以推論藉由增大測試面積來降低微血管密度的空間變異、採用最大血管擴張血流值作標準化以調整微血管密度、或固定測試部位以控制感覺神經支配，皆可能使 peak CVC 獲得良好的再測信度。但因為具有節省時間、且對於受試者較無刺激的優點，短時間加熱程序是較佳的方法（5

分鐘對比 35 分鐘的加熱)。

總而言之，此研究中採用預先界定的規則重新定位測試部位，並使用單點式雷射杜普勒血流計針對前臂背面測量短時間加熱誘發軸突反射充血反應，能獲得可接受的再測信度。左右前臂的局部熱充血反應再測信度不同，且增加環境適應期長度可提升其再測信度。根據我們的研究結果，無論是重新定位相同的測試部位、或是延長環境適應期，皆可提高短時間加熱局部熱充血反應的再測信度。此一省時的方法有利於我們評估單純受神經媒介的局部熱充血反應，並探討其實驗室與臨床上之可能應用。

3.5 圖表

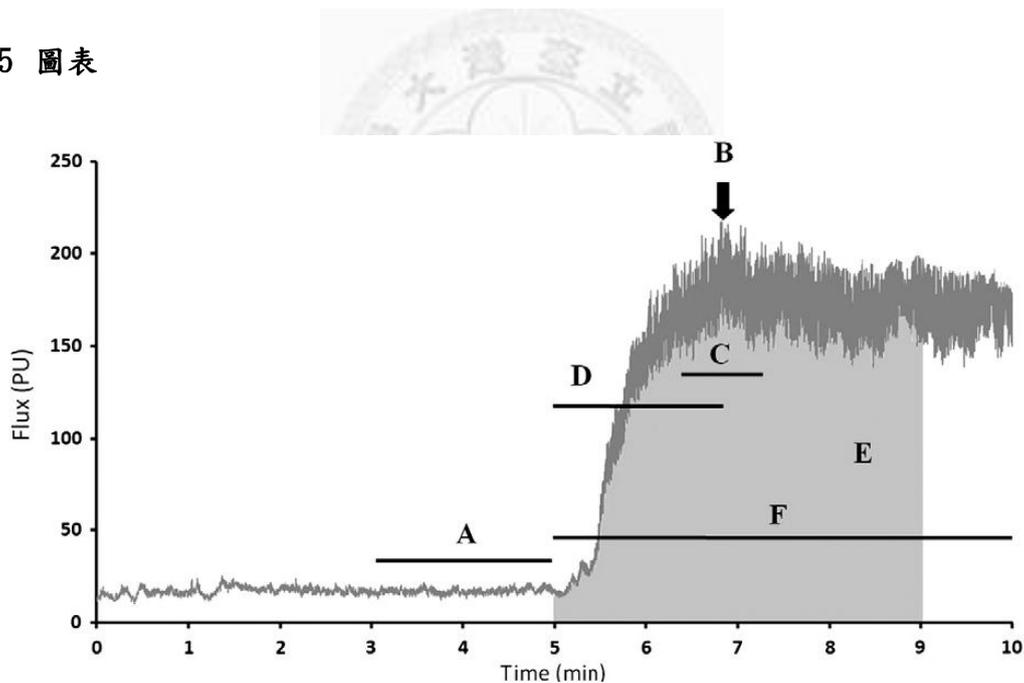


圖 1 五分鐘體表加熱程序的血流改變代表值。A-F 分別代表各數據分析的期間。(A) 3.0–5.0 分鐘(加熱前 2 分鐘)baseline CVC, (B) 高峰血流值(peak flux), (C) 60 秒平均之 peak CVC, (D) 到達高峰血流之時間(time to peak flux), (E) 4 分鐘曲線下面積(4 min AUC), (F) 加熱期間。

表1 30分鐘與60分鐘環境適應組受試者基本資料

	30分鐘環境適應組 (n = 24)	60分鐘環境適應組 (n = 24)
年齡 (years)	25.4±3.5	26.9±4.5
身高 (cm)	167.3±8.7	166.2±6.5
體重 (kg)	60.5±12.6	60.3±10.1
平均動脈壓 (mm Hg)	78.6±5.6	77.3±6.7

數據以means ± SD表示。兩組所有比較 $p > 0.05$ 。

表2 不同數據呈現方式的局部熱充血反應之再測信度

數據呈現方式	30分鐘環境適應組				60分鐘環境適應組			
	右側		左側		右側		左側	
	CV (%)	ICC	CV (%)	ICC	CV (%)	ICC	CV (%)	ICC
Baseline CVC	36.96	0.52	39.72	0.48	45.60	0.47	34.76	0.50
Peak CVC	18.38	0.82	20.24	0.05	15.60	0.87	20.97	0.67
Peak CVC change	20.38	0.83	22.84	0.26	23.64	0.74	23.88	0.61
% of peak CVC change	37.74	0.65	44.04	0.75	55.66	0.58	42.58	0.43
Time to peak	19.80	0.33	16.84	0.52	17.18	0.57	15.35	0.61
4 min AUC	18.66	0.75	17.35	0.16	14.15	0.88	25.17	0.62

再測信度以30分鐘與60分鐘環境適應組第一天與第二天兩次測量的CV與ICC表示。不同數據呈現方式的再測信度包括baseline CVC、peak CVC、peak CVC change、percentage of peak CVC change、time to peak及4 min AUC。右側及左側代表右側及左側的測量點。CVC為cutaneous vascular conductance，CV為coefficient of variation (%), ICC為intra-class correlation coefficient。

表 3 再測信度良好的短期間加熱局部熱充血反應數據摘要

數據呈現方式	測量位置	第一次測試	第二次測試	Difference	CV (%)	ICC	SEM	MDC
30 分鐘環境適應組								
Peak CVC	右側	1.93±0.63	1.84±0.55	-0.14±0.46	18.38	0.82	0.24	0.67
Peak CVC change	右側	1.67±0.63	1.61±0.52	-0.09±0.45	20.38	0.83	0.23	0.64
4 min AUC	右側	27.8±9.6	26.5±7.4	-2.2±8.0	18.66	0.75	4.06	11.24
Time to peak	左側	169.8±36.9	169.9±36.7	0.3±45.1	16.84	0.52	25.70	71.22
60 分鐘環境適應組								
Peak CVC	右側	1.89±0.64	1.93±0.56	0.04±0.42	15.60	0.87	0.22	0.61
	左側	1.70±0.54	1.71±0.52	-0.04±0.55	20.97	0.67	0.31	0.85
Peak CVC change	右側	1.59±0.65	1.67±0.52	0.07±0.57	23.64	0.74	0.31	0.85
	左側	1.47±0.48	1.50±0.53	0.00±0.55	23.88	0.61	0.31	0.86
Time to peak	右側	156.5±42.8	156.8±36.87	0.5±48.0	17.18	0.57	25.12	69.62
	左側	157.3±40.5	160.7±37.0	3.7±45.0	15.35	0.61	23.60	64.32
4 min AUC	右側	27.4±8.5	27.7±7.4	0.6±0.9	14.15	0.88	2.80	7.74

再測信度以 30 分鐘與 60 分鐘環境適應組第一天與第二天兩次測量的 CV 與 ICC 表示。peak CVC 及 4 min AUC 的單位為 AU/mmHg。4 min AUC 的值需乘以 1000。CV 為 coefficient of variation (%), ICC 為 intra-class correlation coefficient。CVC 為 cutaneous vascular conductance, CV 為 coefficient of variation(%), ICC 為 intra-class correlation coefficient, SEM 為 standard error of measurement, MDC 為 minimal detectable change。

第四章 以辣椒素刺激下肢體表對上肢皮膚局部熱充血反應之影響

4.1 前言

如前緒論所述，上肢與下肢的解剖構造與功能相似，上下肢之間有非常即時而緊密的資訊溝通，以便維持正常的肢體運動。過去的研究已經指出四肢之間存在著包括運動神經與交感神經的反射作用 (Cravo et. al., 1995, 2003; Miller and van der Meche, 1976; Piesiur-Strehlow and Meinck, 1980; Zehr, 2001)，而為了達成上下肢之間的動作協調，除了運動神經之外，在解剖對稱部位之間之交感神經反射，可能也存在著特異性的對應關係。但是，迄今並無任何研究針對這個問題加以探究。本研究將探討上下肢之間的體表刺激與交感神經反射作用。

本實驗採用辣椒素於下肢體表刺激，以誘發局部疼痛及皮膚發炎反應，再於上下肢解剖對稱位置觀察是否有刺激反應的特異性變化。辣椒素可以活化人體的傷害性受器(nociceptor)產生痛覺，以及造成局部神經性發炎反應(neurogenic inflammation)，如紅腫、血管擴張、血流增加以及溫度升高等 (Lynn, 1990)。辣椒素主要是刺激感覺神經纖維中的 C 型與 A δ 型神經纖維，其中 C 型神經纖維在週圍端(peripheral end)會逆向釋出神經胜肽引發神經性發炎的產生。substance P 及 CGRP 等發炎前驅物作用於皮膚會造成血管擴張與局部潮紅，並產生痛覺訊息往上級中樞傳遞，而且在較高強度刺激時，會釋放出其他傷害性媒介(nociceptive mediators)，包括 CGRP、substance P、neurokinin A 及 somatostatin 等神經胜肽，使脊髓背角的傷害性神經元活化。此種傷害刺激可誘發體交感神經反射，有些是全身性的，有些則是局部性的，本研究擬探討的是下肢刺激可否在上肢對應部位產生特異性的交感神經活性變化。

為探討上下肢之間是否存在體表刺激誘發特定部位的交感神經活性改變，本研究採用非侵入性的局部熱充血反應作為評估工具。局部熱充血反應是皮膚受快速加熱刺激時，感覺神經 C 型纖維被活化，引發軸突反射與逆向神經衝動傳導，

導致血管擴張。交感神經會加強軸突反射效應 (Drummond and Lipnicki, 1999)，在人體皮膚局部加熱中，norepinephrine 會影響軸突反射的效應 (Hornyak et al., 1990)。多發性系統萎縮症 (multiple system atrophy) 患者因為交感神經的功能缺損，其局部熱充血反應顯著低於正常人，因此局部熱充血反應被認為是評估局部皮膚交感神經功能的有效方法 (Yamanaka et al., 2007)。脊髓損傷患者手背的局部熱充血反應正常，而腳背的局部熱充血反應則顯著低於正常人，此現象被認為與交感神經功能異常有關，因此局部熱充血反應測試也被建議用於評估脊髓損傷患者的交感神經功能狀態 (Nicotra et al., 2004)。第二章的再測信度實驗結果顯示，加熱後初始高峰的 peak CVC 與 peak CVC 改變量在固定測量點具有良好的再測信度 (Huang et al., 2012, 2013)。在短時間內採用固定的測量點，其微血管密度及感覺神經支配並未改變。因此於刺激介入的前後各測試一次局部熱充血反應，並比較刺激前後的熱充血反應量的改變，可用於評估交感神經活性是否改變。本研究假設在下肢給予傷害性刺激後，如能在上肢對應部位產生特異性的 peak CVC 或 peak CVC 改變量的改變，則代表上下肢之間存在特異性的體交感神經反射。因此，本研究的主要目的在於探討局部熱充血反應可否應用於檢測體交感神經反射的改變，並驗證身體上下肢解剖對稱部位之間是否存在特異性的體交感神經反射作用。

4.2 材料與方法

4.2.1 受試者

本研究於民國 97 年 12 月 1 日起至 98 年 12 月 31 日期間，共徵求 20~40 歲健康年輕男性受試者 23 名。受試者沒有任何神經、心血管、糖尿病、嚴重皮膚病以及精神方面相關疾病的病史，且不會對辣椒素產生過敏現象。接受測試當天不可以服用咖啡、茶葉、藥物或接受電刺激或針灸治療，且在實驗前一小時禁止進食。試驗於安靜無干擾的實驗室中進行，室內溫度控制在 24~26°C。本研究獲

得台大醫院研究倫理委員會的核准（案件編號：200810040R）。參與試驗的每一位受試者皆須於實驗前了解整個實驗流程與相關風險，並簽署同意書以示同意自願參與本研究。

受試者到達實驗室後，先採坐姿確認小腿的辣椒素刺激部位與前臂的雷射杜普勒血流計測量部位的位置，以剃刀輕輕剃除局部皮膚體毛，並利用酒精清潔皮膚。受試者於適應環境 30 分鐘後平躺於一張舒適的檢查床上接受試驗，實驗期間受試者保持清醒且為放鬆的狀態。

4.2.2 局部熱充血反應測試

局部熱充血反應測試於辣椒素刺激前後各進行一次（圖 1），兩次測試之間雷射探頭的固定器未移除，以確認測量部位未改變。前臂測試部位有兩處，對應部位（corresponding position, CP）位於前臂外側從肱骨外側突起（lateral epicondyle of humerus）到橈骨外側突起（lateral side of styloid process of radius）連線的上方四分之一處，其位於橈側腕伸肌群（radial side of wrist extensor muscles）上。非對應部位（non-corresponding position, NCP）則位於鷹嘴突（olecranon process）到尺骨頭突起外側（lateral side of head of ulna）連線的上方四分之一處，其位於尺側腕伸肌群（ulnar side of wrist extensor muscles）上，與對應部位距離約 6 公分（圖 2）。測量時避開局部血管與皮膚紅疹部位。

測試程序、儀器與方法與第二章所述相同，即先測量局部血流 5 分鐘（加熱器溫度固定為 33°C），接著利用加熱器（SH02）加熱 5 分鐘（加熱速度為每 10 秒上升 1°C，從 33°C 加熱至 42°C，之後維持在 42°C），並同步測量局部血流。左右前臂同一個測量部位同時測量，兩個測量部位測量順序採隨機分配，一個部位測完後再換另一個部位，每個部位測量 10 分鐘，兩次測試的兩個部位測量順序相同。在測量血流的過程中，受試者同步利用 CareTaker 持續地測量慣用手中指

的血壓，以取得平均動脈壓。

4.2.3 體表辣椒素刺激

每位受試者共接受 3 次試驗，其每次間隔至少一星期。第一次未接受任何刺激，第二次採隨機分配以辣椒素刺激左側或右側小腿，第三次則刺激另一側小腿。給于辣椒素刺激的部位於小腿前外側從脛骨頭外側突起 (lateral condyle of tibia) 到足外踝前側 (anterior side of lateral malleolus) 連線的上方四分之一處，也就是位於脛前肌 (tibialis anterior muscle) 上。

開始進行實驗之前，於兩側小腿以刺激部位為中心敷貼紗布 (2x4 cm)，長軸平行於小腿 (圖 2)。第一次局部熱充血測試完成後，無刺激部位將滴上生理食鹽水，而辣椒素刺激部位則滴上辣椒素溶液。辣椒素溶液是將辣椒素粉末 (Formosa Laboratories, Inc., Taiwan) 溶解於 50% 的酒精溶液中，配製成 0.3% 的辣椒素溶液。刺激液的量是以滴管將含生理實驗水 (第一次兩側無刺激及第二、三次未刺激側) 或辣椒素溶液 (第二及第三次刺激左側或右側小腿) 滴於刺激部位的紗布，速度約一秒鐘兩滴，目視前一滴已被吸收，再滴入下一滴，共 17 滴約 0.4 ml。滴完後以透氣膠帶完全覆蓋紗布，以免酒精蒸發乾涸，無刺激側則滴上相同量的生理食鹽水。靜置 30 分鐘後，於前臂對應部位及非對應部位處採與第一次測試相同之步驟再進行一次局部熱充血反應測試。所有測試完成後，移除辣椒素紗布，並以酒精棉球輕輕擦拭清除殘餘的辣椒素，結束本實驗。

4.2.4 統計分析

本研究採用之 baseline CVC 為加熱前兩分鐘的 CVC 平均值，peak CVC 為開始加熱後達到最大血流量時，前後各取 30 秒共 60 秒的 CVC 平均值。先前局部熱充血測試的同測期再測信度實驗的結果顯示，peak CVC 及 peak CVC 改變量之再測信度良好，因此本研究採用此兩項指標來檢測上肢的局部熱充血反應是否會受到下肢的辣椒素刺激所改變。

統計分析使用統計軟體 SPSS 17.0，以敘述性統計來描述受試者的基本資料及血流相關參數測量結果，所有結果以平均值 \pm 標準差 (mean \pm SD) 來呈現。刺激前後的 peak CVC 及 peak CVC 改變量是否有差異，採用配對 t 檢定 (paired t-test) 來分析。統計檢定之顯著水準定為 α level = 0.05。

4.3 結果

4.3.1 受試者基本資料

本研究採同一受試者間隔至少一星期重複測試，第一次不刺激，第二次隨機以辣椒素刺激左側或右側小腿，第三次則刺激另一側小腿。23 位受試者中，有部分未全程完成三次實驗，最後共有 18 位完成所有實驗，其年齡為 24.5 ± 2.8 歲，身高為 170.9 ± 6.7 公分，體重為 63.4 ± 10.8 公斤。

4.3.2 局部熱充血反應之改變

在未接受任何刺激時，前臂對應部位及非對應部位的 peak CVC (圖 3A) 及 peak CVC 改變量 (圖 3B)，左右側各部位前後兩次測試結果比較都無差異。

右小腿接受辣椒素刺激 30 分鐘之後，以 peak CVC 改變量作比較 (圖 3D)，右前臂對應部位刺激後顯著比刺激前增加，而左側對應部位刺激前後並無差異。左側及右側的非對應部位則刺激前後都無差異。如以 peak CVC 進行比較 (圖 3C)，則無論是左側或右側的對應部位或非對應部位，刺激前後皆無差異。

左小腿接受辣椒素刺激 30 分鐘之後，無論是左側或右側其對應部位及非對應部位的 peak CVC (圖 3E) 及 peak CVC 改變量 (圖 3F)，刺激前與刺激後比較都無差異。

4.4 討論

本研究結果顯示，採用 peak CVC 改變量作為指標時，以辣椒素於右小腿伸

側體表刺激 30 分鐘，則刺激後的右前臂對應部位的熱充血反應較刺激前明顯上升，左前臂則無明顯變化，而非對應部位則左右前臂刺激前後都無差異。刺激左小腿伸側體表後，無論左前臂或右前臂的對應部位與非對應部位都與刺激前無顯著差異。因此，下肢伸側體表傷害性刺激會造成上肢伸側特定對應部位的熱充血反應產生變化，而且只有刺激右側下肢才能得到顯著差異的改變。

造成左右側雖然在對稱的下肢相同刺激點給予辣椒素刺激，但上肢解剖對稱的對應部位的熱充血反應卻不相同，其可能原因包括微血管密度 (Braverman et al., 1990; Cracowski et al., 2006; Wårdell et al., 1994)、感覺神經功能 (Magerl and Treede, 1996; Minson et al., 2001; Wong and Fieger, 2010)、交感神經活性 (Drummond, 2009; Drummond and Lipnicki, 1999; Hodge set al., 2008; Houghton et al., 2006) 及一氧化氮的基礎濃度 (Houghton et al., 2006; Kellogg et al., 1999)。本研究採用固定測量位置，感覺神經纖維分佈與微血管密度兩次測量之間並未改變，此二影響因素應可予以排除。雖然最新的研究結果顯示軸突反射是純週邊的作用 (Groetzner and Weidner, 2010)，但無法排除感覺神經系統的背角神經細胞被敏感化 (sensitization)，導致軸突反射加強的可能性。下肢的遠部位刺激，要改變上肢局部的一氧化氮濃度，如經由體液性的全身性作用應會同時對兩側都發生效應，而本實驗的結果只有單側的熱充血反應產生變化，因此也不像是局部一氧化氮濃度改變的影響。因為交感神經活性會影響軸突反射強度，而傷害性刺激會產生體交感神經反射，因此透過體交感神經反射，使對應部位的交感神經活性上升，進而造成軸突反射增強，是相對比較可能的機轉，但仍需進一步的實驗來確認。因為交感神經拮抗劑本身就會影響軸突反射，因此無法使用其來驗證本研究的作用機轉，可能需要採用電生理的方法來記錄交感神經活性的改變，例如微神經圖 (microneurography)。目前已知大腦控制自律神經的功能在左右側是不對稱的，大腦左半球主要影響副交感神經系統，而右半球則是影響交感神經系統 (Craig, 2005)。此種左右不對稱的現象起

源於週邊自律神經的不對稱，週邊神經唯一不對稱就是自律神經，支配胸腔及腹腔臟器主要的副交感神經（如迷走神經 vagus nerve）及主要的交感神經（如內臟神經 splanchnic nerve）無論在解剖上或功能上左右側都不對稱。如果後續的實驗也證明本研究左右不對稱的機轉確為交感神經的作用，其原因究竟是純脊髓內的脊髓下（infraspinal）路徑的左右差異，或是大腦的自律神經反射中樞的脊髓上（supraspinal）路徑左右不同，甚至是大腦的下行性抑制及興奮作用（descending inhibitory and excitatory）左右側強度不同，則亦需進一步研究。

第二章同測期再測信度分析的 CV 及 ICC 結果顯示，peak CVC 改變量（CV = 14.30-18.12%， ICC = 0.80-0.86）比 peak CVC（CV=16.02-17.31%， ICC = 0.77-0.78）的再測信度較好。原因可能是採用 peak CVC 改變量時，會減去 baseline CVC 作校正，得到的是真正加熱所造成的變化量。本研究的結果顯示，以 peak CVC 改變量作為比較指標，可以得到上下肢對應部位的顯著差異，而以 peak CVC 比較則無法顯示差異。除了再測信度差異之外，可能 30 分鐘的辣椒素刺激所產生的交感神經活性改變量只達到某一強度，此強度可使 peak CVC 改變量產生差異而無法使 peak CVC 達到顯著改變。

同一受試者間隔至少一星期後再接受測試一次，因為需重新尋找測量部位，而單點式雷射杜普勒血流計的量測探頭大小僅 1 mm，造成測量部位已非同一個點。體表的微血管密度差異性很大，而且只適應環境 30 分鐘，依先前不同測期的再測信度結果顯示，右側再現性良好而左側則不佳（Huang et al., 2013），因此不同星期的測量值無法相互比較。同一測期未移除固定器時，左右側的再測信度都良好（Huang et al., 2012），因此辣椒素刺激前後同一個測量部位的前後測可以互相比較。也就是未刺激、刺激右側與刺激左側需分開各自比較，但不同測量部位之間因微血管密度與感覺神經支配都不同，因此無法進行比較。

總而言之，本研究為首次採用體交感神經反射機轉，以局部熱充血反應來探討上下肢之間是否存在著某種刺激與反應的對應關係。結果顯示局部熱充血反應可以有效檢測上下肢之間的刺激反應現象，且此種作用不但有解剖上特異性的對應關係，而且左右側的反應不同。此刺激反應是否確為交感神經的作用，需進一步驗證。

4.5 圖表

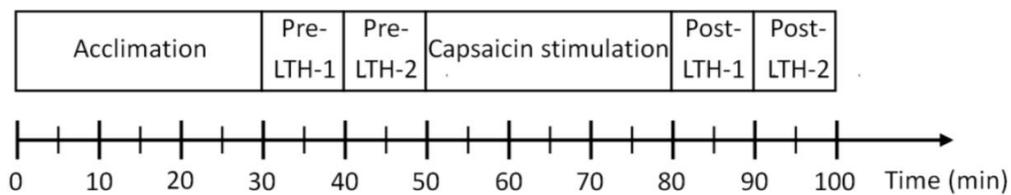


圖 1 實驗進程序。實驗設計為環境適應 (acclimation) 30 分鐘後進行兩次局部熱充血測試，對應部位與非對應部位採隨機順序先後測量 (pre-LTH-1、pre-LTH-2 及 post-LTH-1、post-LTH-2)，兩次之間為辣椒素刺激 (capsaicin stimulation) 30 分鐘。每次局部熱充血測試包括以加熱器維持 33°C 測量基礎血流量 5 分鐘，以及從 33°C 快速加熱到 42°C 共 5 分鐘。

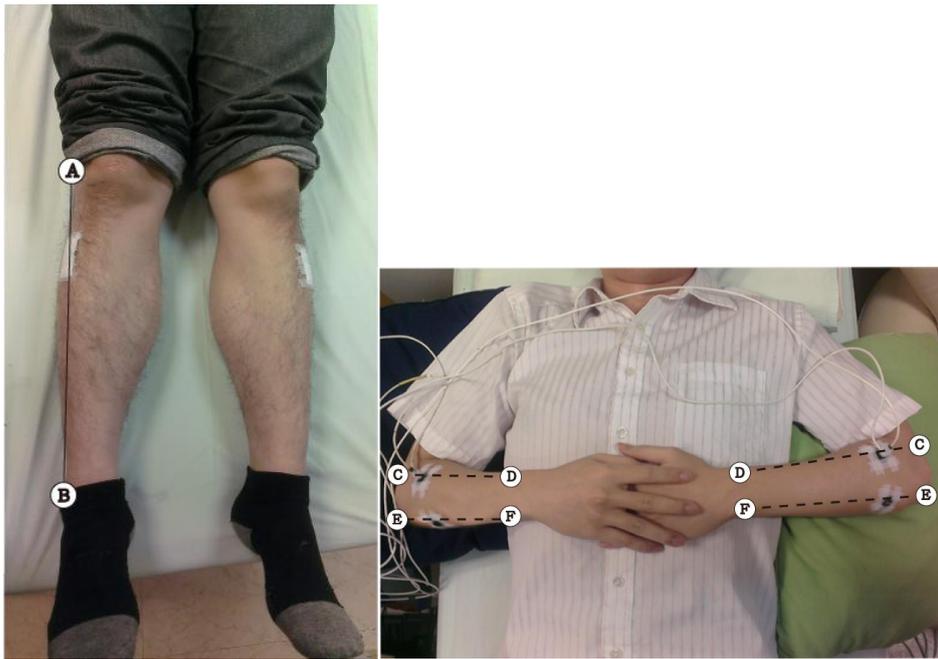


圖 2 下肢辣椒素刺激部位與上肢測量局部熱充血反應的對應部位及非對應部位示意圖。刺激部位中心位於單側小腿脛骨頭外側突起 (A) 到足外踝前側 (B) 連線上方四分之一處，辣椒素紗布敷貼面積大小為 2x4 cm。對應部位位於兩側肱骨外上髁 (C) 以及橈骨莖突 (D) 連線的上方四分之一處。非對應部位則位於鷹嘴突 (E) 到尺骨頭突起外側 (F) 連線的上方四分之一處。

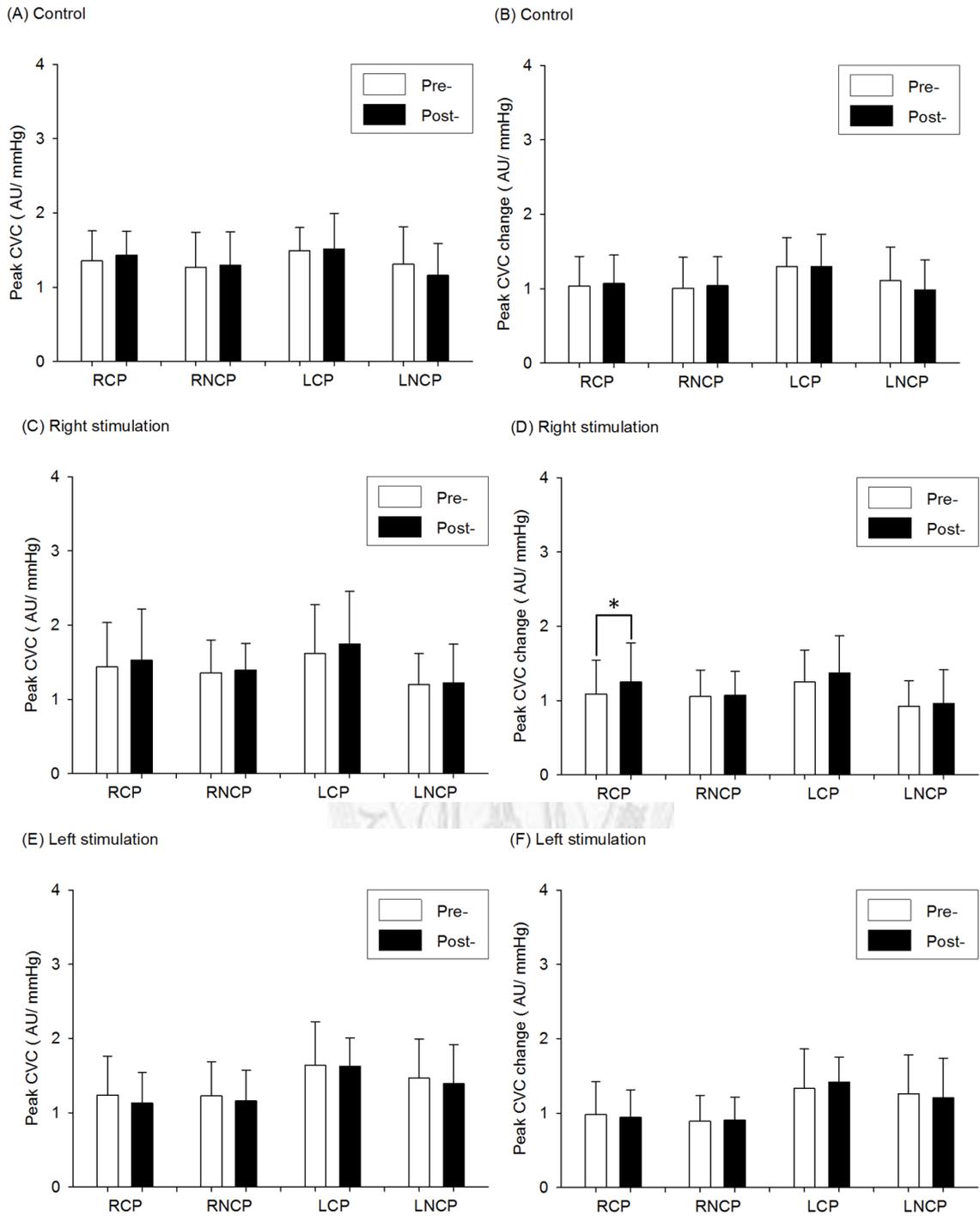


圖 3 以辣椒素刺激單側下肢後，刺激前與刺激後上肢各測量部位之熱充血反應量比較。A 及 B 為無刺激組，C 及 D 為右側刺激組，E 及 F 為左側刺激組。各組左圖採用 peak CVC 進行比較，右圖採用 peak CVC 改變量進行比較。R：右側，L：左側，CP：對應部位，NCP：非對應部位。* $p < 0.05$ 。

第五章 電刺激大鼠前肢對後肢缺血所產生之特異性血流量改變

5.1 前言

上肢與下肢的解剖構造與功能基本相似，都分為伸側與屈側。為維持正常的肢體動作，伸側與屈側的肌肉群互為拮抗。身體各部位的血流量會因應功能需求自動調整，當肌肉收縮時，其交感神經張力會自動下降，使肌肉血流量增加。此時拮抗肌會放鬆，其交感神經張力則會上升，使肌肉血流量降低（Boushel, 2010）。為了達成上下肢之間的動作協調，此種不同肌群的交感神經協同（synergistic）或拮抗（antagonistic）作用，在解剖對稱部位可能存在著特異性的對應關係。但是，到目前為止，很少研究針對這個問題加以探討。

本研究擬採用電刺激來觀察前後肢之間的刺激反應關聯性，並以體表血流量的改變狀況作為反應的指標。先前的研究發現除了直接接受電刺激的部位會產生血流量的變化外，有些特定位置的血流量亦會改變，這些電刺激的部位和血流變化的部位有特異性的關係（Uchida and Hotta, 2008）。刺激大鼠的小腿肌肉可以使其胃部血流上升（Dong et al., 2011），刺激大鼠前腳掌背側則使其腎臟、腦部和心臟的血流上升（Tsuru and Kawakita, 2009）。電刺激在後腳掌可增加腸繫小動脈（mesenteric arterioles）的動脈壓與紅血球流動速度（RBC velocity），但是電刺激在軀幹背部，則會降低其動脈壓與紅血球流動速度（Takagi et al., 2005）。因此本研究假設如果前後肢之間有特異性的刺激反應關聯，則前肢特定部位的電刺激會在後肢的特定區域產生血流的改變。

過去的研究結果顯示，不同頻率與強度的電刺激，都會影響其所產生的效果。在麻醉狀態下，在大鼠後腳掌以 0.1-10.0 mA 的強度及 1-20 Hz 的頻率電刺激，則其股二頭肌（biceps femoris muscle）的血流量會產生不同程度的反應（Noguchi et al., 1999）。電刺激造成肌肉血流量與動脈壓改變的反應型態與不同強度電刺激興奮不同族群的肌肉傳入神經纖維有關，後腳掌足夠強度的電刺

激可刺激 group III and IV 傳入神經纖維，再透過交感神經反射降低肌肉的血流。在大鼠大腿部位施予 2 Hz 和 80 Hz 的電刺激，並分別使用 1.5 mA、3 mA 和 6 mA 三種刺激強度，來觀察卵巢的血流變化，結果顯示 2 Hz 的電刺激能夠引起顯著的血流上升，且強度越強，上升的幅度越大 (Stener-Victorin et al., 2003)。

為了模擬臨床上缺血的病理狀況，並以此模式探討前後肢之間的刺激反應關係，本實驗於大鼠後肢給予缺血傷害後，再於其前肢進行電刺激，並以雷射杜普勒影像儀觀察後肢血流量是否會產生特異性的變化。本研究除了探討前後肢之間是否存在特異性的體表刺激與交感神經反射作用外，也分析不同電刺激頻率是否會產生不同的效應。

5.2 材料與方法

5.2.1 實驗動物

本實驗所使用的動物品系為 Wistar 雄鼠，體重介於 250-300 公克 (BioLASCO Co., Ltd., Taiwan)，飼養於動物房，每三隻養於一個鼠籠 ($47 \times 25 \times 21 \text{ cm}^3$)，日夜光照週期為 12-12 小時 (燈亮時間為上午 8 點)，室溫維持 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ，濕度控制在 $55 \pm 10\%$ 。飼養期間動物用飼料與飲用水供應充足，並定時更換墊料。本研究所有實驗程序都符合動物保護法之規範，且獲得台灣大學醫學院實驗動物管理使用委員會之核准，並遵守美國國家衛生研究院 (National Institutes of Health) 實驗動物之管理與使用守則 (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)。

5.2.2 後肢缺血

所有動物於第一天剃除前後肢的鼠毛，以便實施電刺激及測量血流。方式為給予 3.5% pentobarbital sodium (Sigma-Aldrich, USA) 腹腔注射麻醉，劑

量為 50 mg/kg (3.5 gm pentobarbital sodium 溶解在 100 ml normal saline 中)。剃毛範圍包括雙側前肢與後肢的鼠毛，於背側塗上除毛膏 (New touch, Fast Removal Hair Cream, Tien Liang Biotech Co. Ltd., Taiwan)，10 分鐘後洗去脫毛膏，並置於保溫墊上避免失溫，待實驗動物恢復意識後放回鼠籠。

除毛後隔一天，實驗動物給予 3.5% pentobarbital sodium 腹腔注射麻醉，劑量為 50 mg/kg，雙側後肢各以兩條橡皮筋 (直徑 10 mm, 寬 1 mm, Gendai Pharmaceutical Co. Ltd., Japan) 綁上使其造成缺血的狀態，並且儘量綁在髖關節以上的位置，時間維持 60 分鐘，並置於保溫墊上避免失溫。以雷射杜普勒影像儀測量此加壓缺血模式下的血流量變化，缺血過程中其血流下降至剩下 20-30%，符合缺血需使血流量低於 35% 的定義。接著鬆開橡皮筋，待大鼠清醒後，放回鼠籠，使其正常活動。

5.2.3 前肢電刺激

後肢缺血與再充血 24 小時後，將動物分成對照組與電刺激組，電刺激組分為 3 Hz、45 Hz 及 125 Hz 三種頻率的電刺激，每種頻率各再分為電刺激右前肢與左前肢。總共有對照組 1 組、電刺激 6 組，每組動物皆為 6 隻。

實驗動物接受電刺激當天以 0.5% urethane (Sigma-Aldrich, USA) 腹腔注射麻醉，劑量為 1.5 mg/kg (10 gm urethane 溶解在 20 ml normal saline 中)，接著置於體溫維持墊 (TC-1000 Rat Temperature Controller, CWE, Inc. USA) 上，將偵測肛溫的探針置入肛門，溫度設定在 37°C，用以維持體溫於 37°C，休息 20 分鐘後開始記錄體表血流。

本研究採用雷射杜普勒影像儀 (Laser Doppler Line Scanner, LDLS, Moor Instruments Ltd., UK) 測量體表血流，雷射光波長 785 nm，最大輸出功率為 30 mW。以雷射杜普勒影像儀掃描全身，每次掃描時間花費 5 秒。在基礎 (baseline) 測量時間的 20 分鐘期間，雷射掃描記錄共三次，分別在第 0、17 及 20 分鐘各記

錄一次（圖 1）。

電刺激的作用電極（active electrode）採用直徑 0.19 mm 的不鏽鋼針灸針（J.D. Instrument Co. Ltd., Taiwan），以 5 mm 的深度斜扎進前肢左側或右側伸側肱三頭肌下方四分之一處，參考電極（reference electrode）則採用自黏性貼片（self-adhesive electrode），大小為 20x25 mm（P-20x25, Gel A, Wandy Rubber Industrial Co. Ltd., Taiwan），貼於剃毛後的胸口位置（圖 2）。電刺激採用低週波電針治療機（TOKKI III M180-B, Japan），刺激頻率設定為 3、45 或 125 Hz，波寬為 1 msec，電流強度為 3 mA，刺激時間週期為通電 2.2 秒，休息 1.2 秒，施予前肢單側（左側或右側），電刺激持續 30 分鐘，此期間每 3 分鐘以雷射杜普勒影像記錄一次血流，共 10 次；停止電刺激後，再持續每 3 分鐘記錄一次血流 30 分鐘，共 10 次（圖 1）。對照組不施以電刺激，血流量記錄時間長度、間隔與電刺激組完全相同。實驗過程中大鼠全程俯臥，並使用體溫維持墊維持體溫（圖 2）。

5.2.4 血流測量與計算

為了解雷射杜普勒影像儀測量過程的雷射照射是否會影響血流，本研究先進行了前導性實驗，結果顯示每分鐘掃描測量一次，則在第 58 分鐘起血流量會開始明顯上升（資料未顯示）。因此本實驗採用每 3 分鐘測量一次的方式，以避免雷射光可能對血流測量的影響。為了避免插管對動物造成刺激而影響實驗結果，本研究先進行前導性實驗評估電刺激對心跳與血壓的影響，結果顯示本實驗參考電極貼於胸前的電刺激模式不會影響電刺激期間及電刺激之後的心跳與血壓（資料未顯示）。

數據分析以軟體 MoorLDLS v2.2 進行，將兩側後肢伸側股二頭肌下方二分之一的範圍設定為資料擷取區（ROI, region of interest），也就是以坐骨粗隆與外踝連線中點、膝關節髕骨和外踝所構成的三角形範圍（圖 3）。

為了分析各時間點血流對應基礎測量血流的變化情形，以各動物進行基礎測量的最後 6 分鐘的兩個資料平均值作為基礎血流量，以便對電刺激與電刺激後共 60 分鐘的 20 個時間點的資料做標準化處理，即將各時間點之血流量減去基礎血流量，再除以基礎血流量，乘以 100%。

針對前肢電刺激可使後肢血流量顯著上升的組別，將進一步在後肢缺血區域選取較小的範圍，來探討此種血流量上升現象是否只在特定部位產生。選取的範圍包括四個大小為直徑 1 cm 的圓形區域，如圖 6 所標示：(1) m (muscle) 為以肌肉長度為依據，在股二頭肌下方四分之一處，約小腿正中央。(2) o-i (origin - insertion) 為以肌肉起始點為依據，於坐骨粗隆到脛骨二分之一處連線的下方四分之一處。(3) j (joint) 為以關節相對位置為依據，在坐骨粗隆到膝關節的下四分之一處。以及 (4) nc (non-corresponding) 為股二頭肌外的位置，取坐骨粗隆與踝關節連線二分之一之內側。

5.2.5 數據分析與統計

所有的數據都以相對血流變化的平均值 \pm 標準誤 (SEM) 呈現。利用 Statistic 6.1 (StatSoft, Inc.) 套裝軟體進行統計分析，並以 SigmaPlot 10.0 (Systat Software, Inc.) 進行圖表繪製。各頻率左側或右側前肢電刺激對雙側後肢血流改變量的影響，與對照組數據作比較，採 one-way ANOVA 進行檢定；若 F 檢定具有顯著差異，則以 Student t-test 進行各時間點血流改變量的檢定。電刺激左側或右側前肢，左右後肢之間的血流改變量比較採用 one-way repeated measure ANOVA 檢定法進行；若 F 檢定具有顯著差異，則以 paired t-test 進行各時間點血流改變量的檢定。統計結果 P 值小於 0.05 時被認定具有顯著的統計差異。

5.3 結果

實驗過程中之血流改變從雷射掃描圖觀察，圖 4 以對照組及左前肢 125 Hz 電刺激組其中各一隻動物分別呈現電刺激前、電刺激時與電刺激後之血流掃描圖；baseline 採第 17 及 20 分鐘平均，電刺激中採第 27 及 30 分鐘平均，電刺激結束後採第 27 及 30 分鐘平均。結果顯示對照組動物的後肢血流變化量較小，而左前肢 125 Hz 電刺激組動物的後肢血流變化量較大。

以後肢股二頭肌下方二分之一範圍的皮表區域計算血流量時，給予前肢 3 Hz (圖 5AB) 或 45 Hz (圖 5CD) 電刺激，無論電刺激在左側或右側，其兩側後肢血流量都與對照組無差異。但給予前肢 125 Hz 電刺激時，則電刺激在左側可顯著提升兩側後肢血流量 (圖 5E)，左側上升幅度較右側高，但兩者在統計上未達顯著差異。自電刺激第 9 分鐘起左後肢的血流量已顯著上升，而右後肢則在第 24 分鐘才達到顯著上升的程度，此種血流上升現象一直持續到電刺激結束 30 分鐘後仍維持。電刺激在右側則後肢血流量與對照組比較無差異 (圖 5F)。

因 125 Hz 電刺激左前肢造成其左右後肢的血流顯著上升，因此接下來以此組別在左右後肢缺血區域選取較小的範圍進行分析，探討此種血流上升現象是否具有特異性，亦即是否只有特定部位的血流上升，而其它部位之血流未上升。左後肢的分析結果如圖 7 所示，以肌肉長度 m (muscle) (A) 及以肌肉起始點 o-i (origin-insertion) (B) 為依據所選取的小區域，其左後肢血流量顯著比對照組高。以關節相對位置 j (joint) (C) 為依據所選取的小區域，其左後肢血流只有在第 12 及 24 分鐘時比對照組高。但股二頭肌外的位置 nc (non-corresponding) (D)，除第 24 分鐘之外其血流量與對照組相比則幾無差異。而右後肢的分析結果如圖 8 所示，只有在以肌肉長度 m (muscle) 為依據的第 24 及 27 分鐘時比對照組高 (A)，其他以肌肉起始點 o-i (origin-insertion) 為依據 (B)、以關節相對位置 j (joint) 為依據 (C) 及股二頭肌外的位置 nc (non-corresponding) (D)，都與對照組無差異。

5.4 討論

本研究採用 3 Hz、45 Hz 及 125 Hz 三種頻率在大鼠單側前肢進行 30 分鐘的電刺激，結果顯示 3 Hz 及 45 Hz 電刺激對於後肢缺血的血流量並無作用，只有 125 Hz 電刺激可產生顯著增加血流量的效果，但只有電刺激左前肢可改善兩側後肢血流，且左後肢較右後肢明顯，而電刺激右前肢則無論是對左側或右側後肢都無作用。此種血流改變在左後肢並非均勻分佈，如以前肢肱三頭肌對應後肢股二頭肌為依據，其解剖對稱部位的血流上升最為明顯。此種血流上升效果在電刺激 9 分鐘之內就已產生，且可維持到電刺激結束後至少 30 分鐘以上。因此對於此種後肢缺血而於前肢遠部進行電刺激時，須採用高頻率電刺激才有效果，而且左右側的電刺激效果不同，針對不同部位的缺血，需於解剖上相對應的部位電刺激其效果較佳。

5.4.1 電刺激部位與體側

因為左側或右側前肢電刺激的效果不同，後肢缺血各小區域的改善效果也不均勻，而且這些效果很快就產生，因此推論效果可能來自局部交感神經活性的改變進而改變血管的擴張性，比較不像是體液性物質的作用。推測其機轉可能來自體交感神經反射，使後肢特定部位的交感神經張力下降，進而增加血流。過去的研究顯示電刺激的抗發炎與止痛效用來自不同的機轉，作用時間也不同。於大鼠前肢給予 2 Hz 電刺激，1-2 小時後可降低後肢腳踝扭傷的疼痛度，但抗發炎消腫則發生在 6-12 小時之後 (Hahm, 2007)。另一個研究顯示低頻率電刺激在 2.5 小時之後可降低發炎性痛覺過敏 (inflammatory hyperalgesia)，而抑制水腫則需在 24 小時之後 (Lao et al., 2001)。本實驗所得到的反應時間比這些實驗都快，但因比較的指標不同，其中的差異性需再進一步加以釐清。

在本實驗裡，只有電刺激左前肢可使兩側後肢血流上升，電刺激右前肢則無作用。而且細分的小區域血流上升程度每個部位不同，其中在股二頭肌外的區

域，其血流上升並不明顯。在二頭肌的範圍內，以肌肉長度或肌肉起始點為依據的對應部位，都有較顯著的血流上升，此兩點位於接近股二頭肌中下段的位置，而以關節位置為參考位置，則位於股二頭肌的較上段，其血流上升也較不明顯，這代表股二頭肌範圍內也非整體血流都相等程度地上升。因此，本動物實驗的結果顯示，前後肢之間存在著部位對部位的特異性刺激反應關係，此結果與大鼠後肢腳踝扭傷而於前肢對應部位進行電刺激類似 (Koo et al., 2002)。至於此反應是經由脊髓下 (infraspinal) 或脊髓上 (supraspinal) 的路徑，則需進一步探討。是否確實是因為交感神經的功能改變造成血流的改變，也可以進一步採用擬交感神經藥物 (sympathomimetic drugs) 來驗證。至於左右側的刺激反應結果不對稱，是否與第四章討論中所提的周邊與大腦的自律神經左右側都不對稱有關，則值得進一步加以探究。

5.4.2 電刺激頻率

過去的研究顯示，高頻率與低頻率電刺激對於不同的疼痛狀態所產生的止痛效果不同。有報告指出高頻率電刺激對發炎性痛覺過敏 (Lao et al., 2004) 及手術後疼痛 (post-operative pain) (Lin et al., 2002) 較有效。另外的報告指出 100 Hz 電刺激可降低機械性痛覺過敏 (mechanical hyperalgesia)，但卻不影響熱發炎痛覺過敏 (thermal inflammatory hyperalgesia) (Huang et al., 2004)。這些研究的結果並不一致，顯示不同頻率的電刺激會在不同類型的疼痛與痛覺過敏產生不同的效果。先前實驗以大鼠腳踝扭傷 (ankle sprain) 的實驗模型，來探討不同頻率電刺激的消炎與止痛效果，結果顯示 2 及 100 Hz 電刺激所產生的止痛效果與步伐力量 (stepping force) 的恢復並無差別，但只有 2 Hz 電刺激有加速消腫的效果 (Hahm, 2007)。此結果與本實驗需 125 Hz 高頻率才能提升血流量的作用不同，但因兩者分析的指標不同，其中的差異仍須進行更深入之評估。該實驗模型的電刺激效應也具有部位對部位的特異性效果，只有對應部位 SI-6 的電刺激可產生療效，鄰近的非對應部位 LI-4 則無效果。另外的實驗

也證明 SI-6 的電刺激對腳踝扭傷疼痛有效 (Koo et al., 2002)，但卻對膝關節炎無效 (Koo et al., 2003)。因此這種電刺激的效應比較可能是透過神經系統所產生的局部性作用，而不像是經由鴉片止痛系統 (opioid analgesic system) 的全身性作用。

大鼠腳踝扭傷電刺激實驗結果顯示，對側前肢 SI-6 的電刺激可以產生長達 2 小時的止痛效果 (Koo et al., 2002)，該實驗室針對其可能作用機轉作進一步的探討，發現腹膜內注射 alpha 腎上腺受體 (alpha-adrenoceptor) 的拮抗劑 (antagonist) phentolamine 可完全阻斷此種止痛效果，但鴉片受體 (opioid receptor) 的拮抗劑 naloxone 則不會，因此證明此種電刺激的止痛效果來自 alpha 腎上腺受體機轉 (alpha-adrenoceptor mechanisms)，而非內生性鴉片系統 (Koo et al., 2008)。雖然其研究並未觀察血流量的改變，但結果顯示其止痛效果可能與交感神經系統有關。

過去的研究顯示低頻率 (2-10 Hz) 及高頻率 (≥ 100 Hz) 電針灸 (electroacupuncture) 是分別透過不同的作用機轉，經由活化不同的脊髓與中樞神經部位 (Lee and Beitz, 1993; Zang et al., 2003)，選擇性釋出 endorphins、enkephalins 或 dynorphins。2 Hz 電刺激會誘發 endorphin、enkephalin 或 endomorphin 的釋出，而 100 Hz 電刺激則釋出 dynorphin (Chen and Han, 1992; Han et al., 1999; Wang et al., 1992)。同時會誘發不同的自律神經反應 (Liao et al., 2002; Stener-Victorin et al., 2003)。因此高頻率與低頻率電針灸應會產生不同的治療效果。本研究的結果也顯示低中高頻的電刺激對於血流的改善效應不同，其作用機轉需進行更深入的探究。

無論是經由內啡肽系統或神經反射系統的作用，這些結果顯示高頻率與低頻率的電刺激的作用機轉不同，不同部位的電刺激效果也不同，因此不同的病理狀態可能需要選擇不同頻率的電刺激，並且在特定的部位實施電刺激，才能達到療

效的最佳化。

5.4.3 實驗的考量與限制

因為研究的目的不同，過去以止血帶 (tourniquet) 綑綁動物產生肢體缺血再充血的研究，其所採用的缺血時間有 1-4 小時不等 (Barie and Mullins, 1988; Mäkitie and Teräväinen, 1977; Pedowitz, 1991; Sapega et al. 1985; Schmelzer et al., 1989; Schoen et al., 2007)。狗的後肢缺血 2 小時後，於第 14 小時起肌肉就開始發生不可逆的肌纖維變性 (progressive myofibrillar degeneration)，組織解剖學上的變化在 24 小時達到最高峰。雖然等長性張力 (isometric tension) 在再充血後幾分鐘就恢復，但肌肉張力在再充血 24 小時後卻會大幅下降，且持續達 6 天之久 (Sapega et al. 1985)。大鼠坐骨神經缺血超過 2-3 小時會產生神經受損，而缺血 60 分鐘並不會造成神經損傷 (Mäkitie and Teräväinen, 1977; Schmelzer et al., 1989)。本研究主要目的是探討神經的作用，因此採用缺血 60 分鐘，使達到肌肉缺血受傷但神經受傷不至於被破壞的程度，開始電刺激的時間則選擇肌肉受損達高峰的缺血再充血 24 小時之後。本實驗所採用的雷射杜普勒影像儀只量測表淺血流 (約 1 mm)，至於深層肌肉的血流 (4-6 mm) 效應如何，則可採用高功率雷射進一步加以探討 (Clough et al., 2009)。

此外，對照組在實驗過程的最後 30 分鐘血流會緩慢持續上升，使電刺激結束之後的血流上升差距逐漸縮小。此種最後血流上升的原因，是否麻醉過程的正常現象，抑或因為雷射掃描的影響，或係動物麻醉深度減輕所致，還需要進一步的釐清。但此種現象對於研究的結果與分析並不產生影響。

本實驗在除毛、後肢缺血與電刺激時使用不同的麻醉劑，主要是考量 pentobarbital 比較會影響心肺功能，對於肌肉張力維持較不好，但作用時間較短，比較適合麻醉深度較淺與較短時間的處理或手術 (Field, K.J. et al.,

1993)，故前兩天的剃毛及後肢缺血使用 pentobarbital。因為只要肌肉張力改變血流量就會改變，且電刺激所花費的時間較長，比較不適合使用 pentobarbital，而 urethane 比較不會影響血壓及呼吸，麻醉深度較深也較久，而且實驗結束後動物即予以犧牲，因此電刺激時採用 urethane 進行麻醉。

總而言之，本研究結果顯示不同頻率的電刺激施加在前肢不同的體側，其對後肢缺血的改善效應不同。此種效果不但作用快，而且存在著解剖上的前後肢對應關係，推測可能是經由體交感神經反射，使後肢特定部位的交感神經張力下降，進而使血流量增加。

5.5 圖表

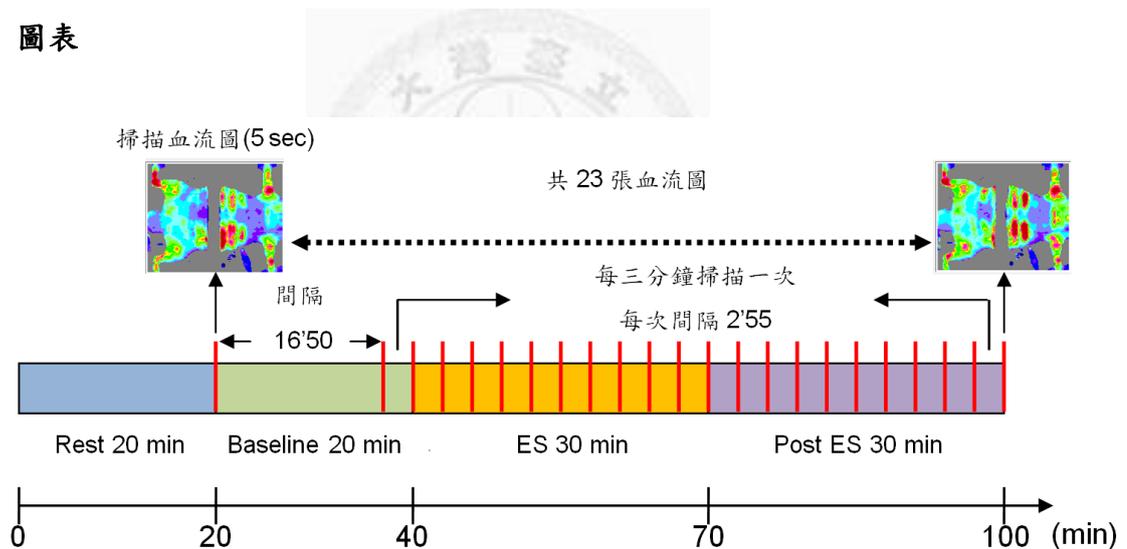


圖 1 動物實驗進行程序。包括休息 20 分鐘、基礎測量 20 分鐘、電刺激 30 分鐘及電刺激停止後 30 分鐘。雷射掃描測量血流總共 23 次。



圖 2 動物施行電刺激與血流測量的照片。上圖為動物俯臥於體溫維持墊上，從上方以雷射杜普勒影像儀全身掃描測量血流。左下圖顯示參考電極黏貼於胸前。右下圖為作用電極位於前肢肱三頭肌下方之四分之一處。

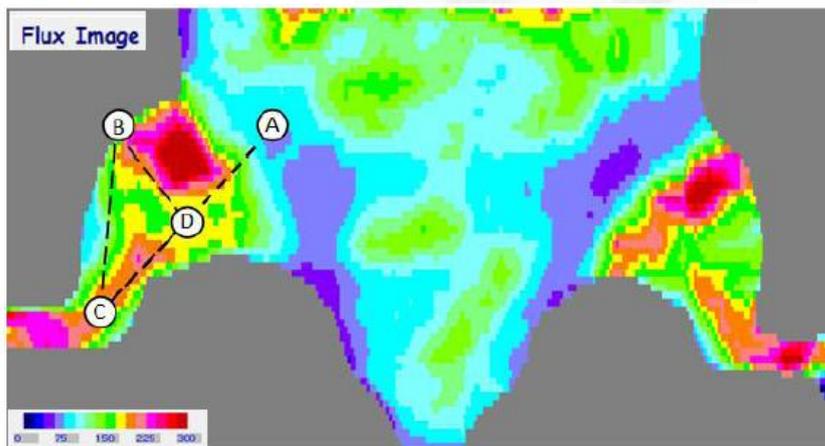


圖 3 後肢血流量分析範圍。雷射杜普勒影像儀掃描血流分佈圖之分析區域為股二頭肌下方二分之一的範圍，亦即以坐骨粗隆 (A) 與外踝 (C) 的連線中點 (D)、膝關節髕骨 (B) 和外踝 (C) 所構成的三角形範圍。

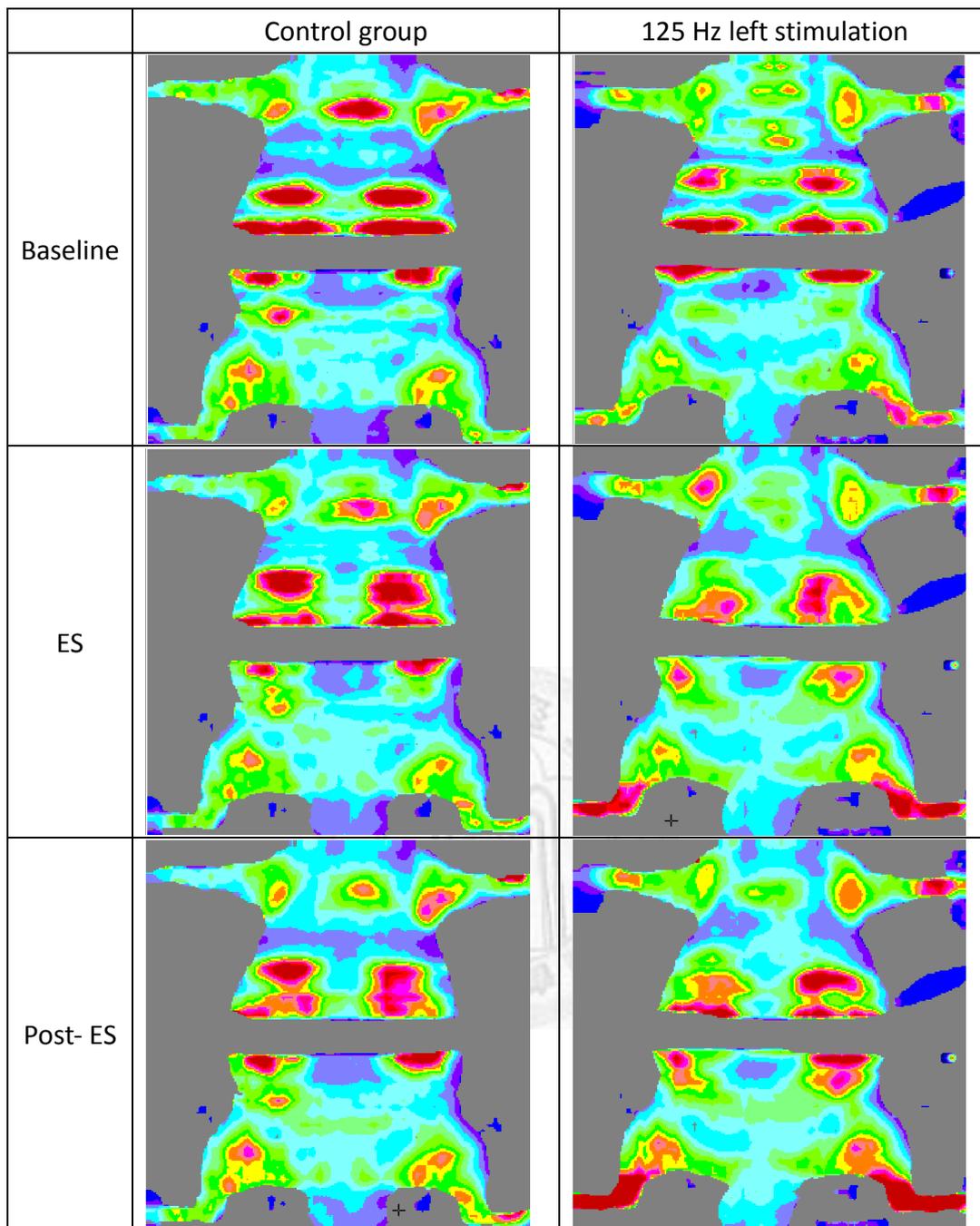
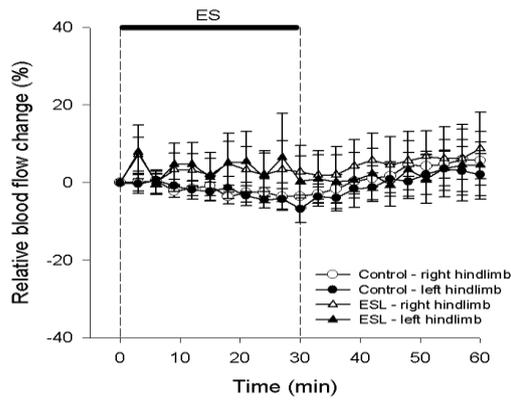
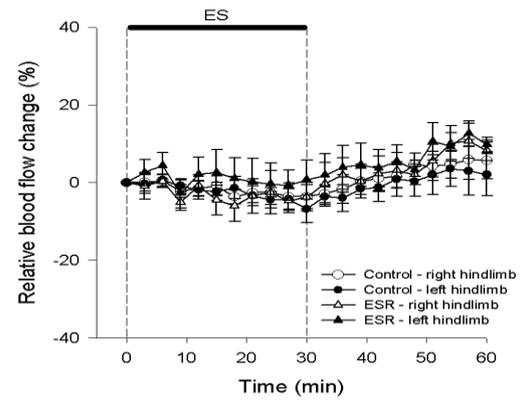


圖 4 實驗過程中之血流分佈掃描圖。左側為對照組其中的一隻動物，右側為左前肢 125 Hz 電刺激組其中的一隻動物。上圖 baseline 為第 17 及 20 分鐘平均，中圖為電刺激第 27 及 30 分鐘平均，下圖為電刺激結束後第 27 及 30 分鐘平均。

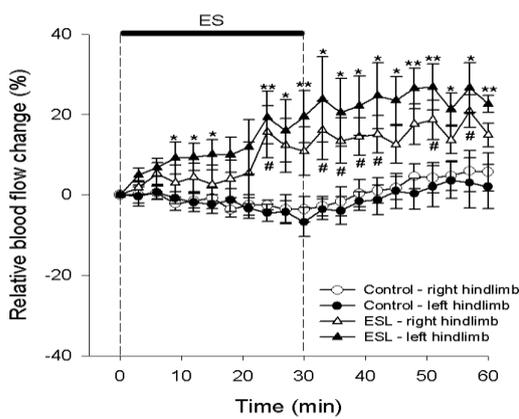
(C) 45 Hz left stimulation



(D) 45 Hz right stimulation



(E) 125 Hz left stimulation



(F) 125 Hz right stimulation

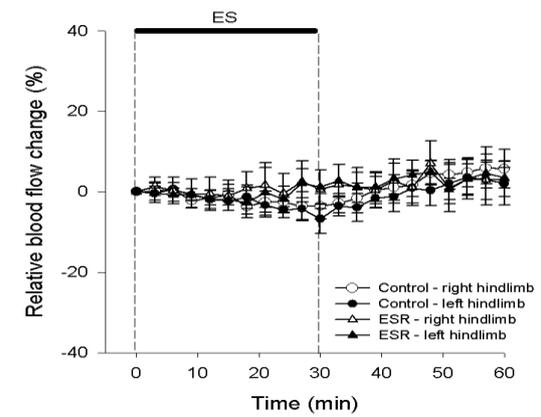


圖 5 前肢電刺激造成後肢血流改變之情形。以 3 Hz (AB)、45 Hz (CD) 及 125 Hz (EF) 於前肢電刺激，並於左右後肢測量血流量之改變。各組左圖為左側電刺激，右圖為右側電刺激。縱軸為相對於基礎血流的血流改變量，橫軸為時間，包括電刺激 30 分鐘(ES)及電刺激後 30 分鐘。電刺激組與對照組比較左後肢血流變化，** $p < 0.01$ ，* $p < 0.05$ 。電刺激組與對照組比較右後肢血流變化，# $p < 0.05$ 。

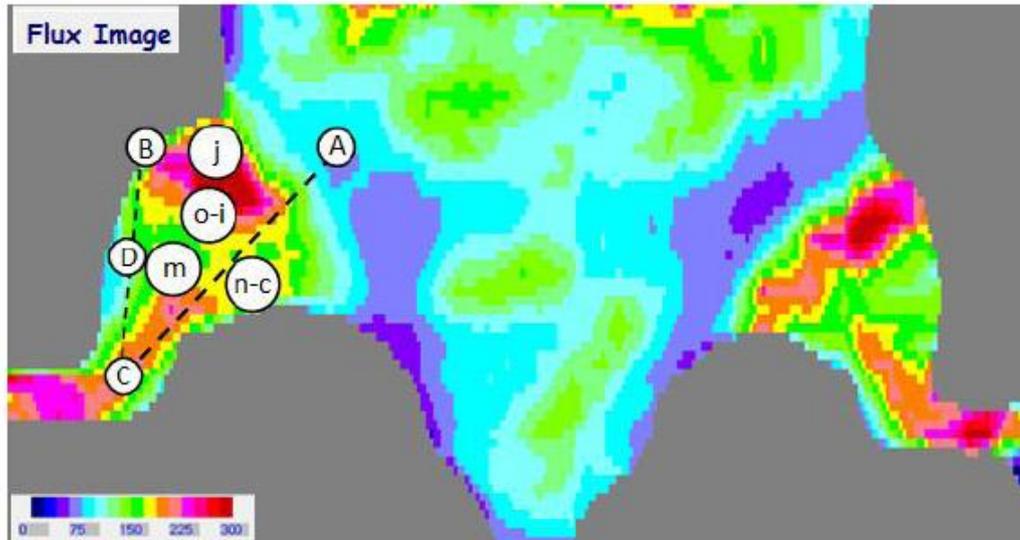
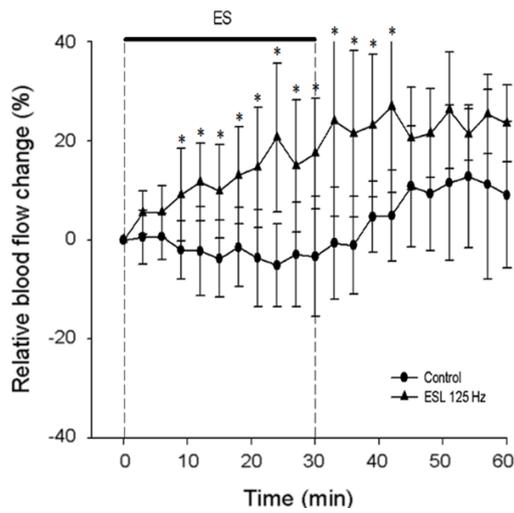
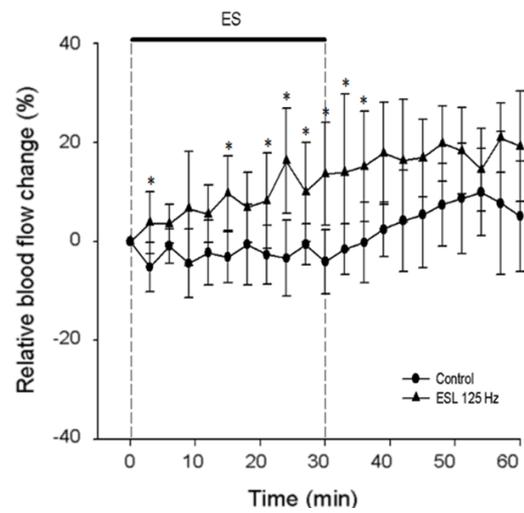


圖 6 四個小範圍血流量分析區域位置示意圖。本圖為雷射杜普勒影像儀掃描血流分佈情形。m 為以肌肉長度為依據，在股二頭肌下方四分之一處，約小腿正中央、o-i 為以肌肉起始點為依據，於坐骨粗隆 (A) 到脛骨二分之一 (D) 處連線之下方四分之一處、j 為以關節相對位置為依據，在坐骨粗隆 (A) 到膝關節 (B) 的下方四分之一處、以及 nc 為股二頭肌外的位置，取坐骨粗隆 (A) 與踝關節 (C) 連線二分之一之內側。

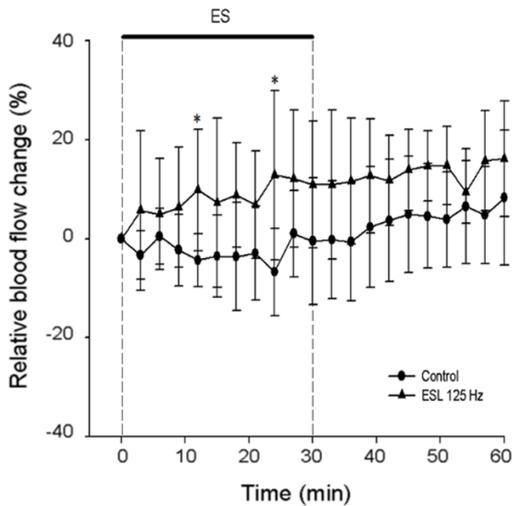
(A) Muscle length



(B) Muscle origin-insertion



(C) Joint distance



(D) Non-corresponding

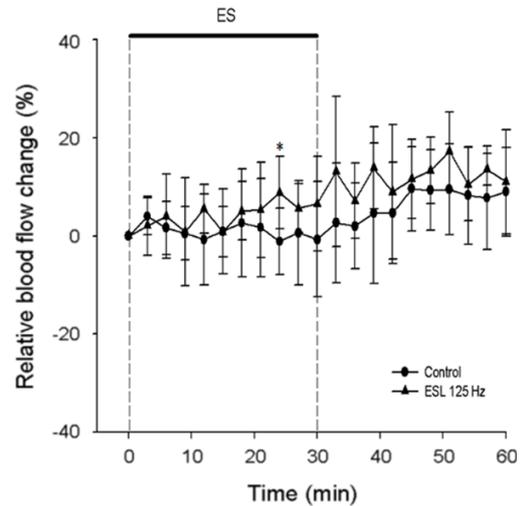
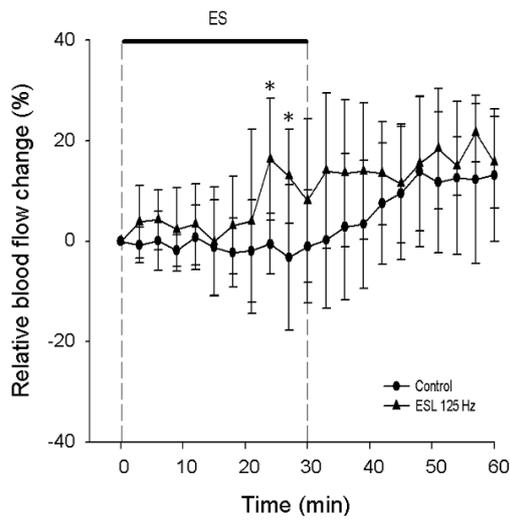
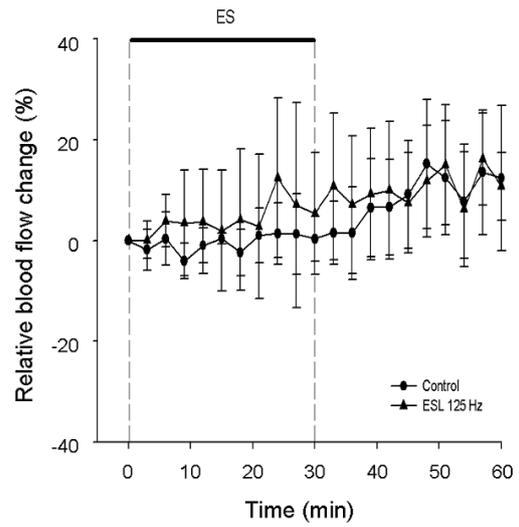


圖 7 左前肢 125 Hz 電刺激造成左後肢各區域血流量之改變。四個小區域為 (A) muscle length 為以肌肉長度為依據，(B) muscle origin-insertion 為以肌肉起始點為依據，(C) joint distance 為以關節相對位置為依據，(D) non-corresponding 為股二頭肌外的位置。縱軸為相對於基礎血流的血流改變量，橫軸為時間，包括電刺激 30 分鐘 (ES) 及電刺激後 30 分鐘。電刺激組與對照組比較左後肢血流變化，* $p < 0.05$ 。

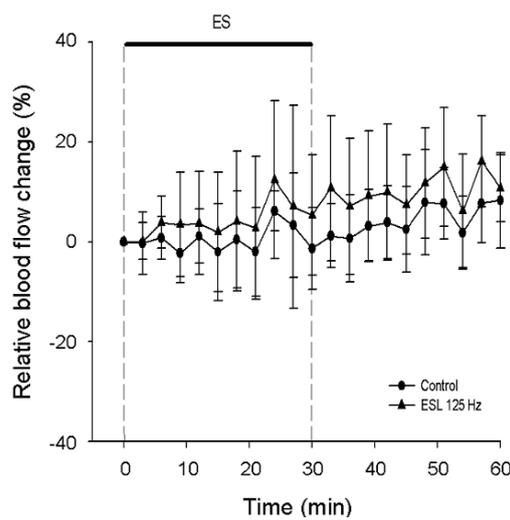
(A) Muscle length



(B) Muscle origin-insertion



(C) Joint distance



(D) Non-corresponding

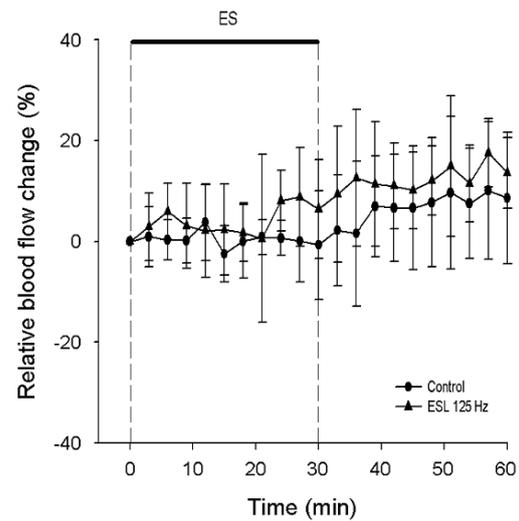


圖 8 左前肢 125 Hz 電刺激造成右後肢各區域血流量之改變。四個小區域為 (A) muscle length 為以肌肉長度為依據，(B) muscle origin-insertion 為以肌肉起始點為依據，(C) joint distance 為以關節相對位置為依據，(D) non-corresponding 為股二頭肌外的位置。縱軸為相對於基礎血流的血流改變量，橫軸為時間，包括電刺激 30 分鐘 (ES) 及電刺激後 30 分鐘。電刺激組與對照組比較右後肢血流變化，* $p < 0.05$ 。

第六章 結論

近代生理學大師 Cannon 提出所有生理機能的主要目的是要讓動物體大都經由負回饋 (negative feedback) 的機制維持其內環境 (internal environment) 恆定狀態 (homeostasis) (Cannon, 1929)。Sterling 和 Eyer (1988) 進一步提出應變恆定狀態 (allostasis) 的概念, 強調生物體在外界變化的環境中會透過多種模式來維持內環境的恆定狀態 (McEwen and Wingfield, 2003; Romero et al., 2009)。近年來生物科技發展迅速, 對於生物體各種機能在分子生物學層面運作機轉的了解已有大幅度的進展。然而, 根據這些生理機轉所研發出來的藥物, 縱然能使生物體失調的病理狀態得以控制, 但生理機能環環相扣, 恢復生理狀態的恆定, 仍要靠自身各個系統的自行調適。

動物體對外界刺激產生反應、恢復生理機能恆定的過程中, 大至器官系統, 小至分子化學成分都有一定的運作機轉。多年來從分子生物學角度探討生理機轉所花費的經費人力非常龐大, 但所獲得實際應用於改善健康的成果卻仍然有限。因此, 回歸最原始的觀察, 從整體醫療 (integrated medicine) 大架構重新省思動物的自然調適機制, 從另一個角度來研究, 或許比較有機會找到突破點。

本研究乃基於此種策略性思考, 將重心放在動物對刺激產生反應的這個機轉, 並以動物最重要的自動調適功能「自律神經調控血液循環」為研究目標。因此, 本研究的基本構想就是探討刺激反應過程中神經與血液循環的變化, 以此建立一套研究模式, 以利於後續探討動物為何對於刺激失去調適能力, 以至於無法恢復生理恆定狀態而導致各種疾病的發生。在了解動物如何藉由神經與循環系統來達成對刺激的調適, 以及其失調時所產生的病理現象後, 則將有機會發展成為一套完整的神經調節醫學, 藉由物理性的人為施予刺激, 來產生預期的反應, 以達到調控神經功能與改善生理機能的目的。

本研究主要的目的為建構探討動物生理病理的刺激反應所需的方法學, 聚焦

在神經系統與血液循環系統的刺激與反應。並利用所建立的方法學模型進行刺激反應關聯性規則的驗證。各種不同的病理狀態，可能在體表相對應的部位產生反應，使其壓痛閾值降低，而前導研究的結果發現這些反應部位的局部熱充血反應是處於被加強的狀態。因此，首先將過去所使用的局部熱充血測試方法加以改良，縮短檢測時間，並提高其再測信度。接著針對這些對應的反應部位進行治療，建立有效的刺激反應治療模型，以便進一步反向測試其治療效果。電刺激是臨床及研究使用最為廣泛的體表刺激模式，但如何選取較佳的治療參數仍有許多不同的結論，故本研究採用電刺激來探討刺激反應的效應，並找出較佳的治療頻率參數。

軸突反射充血反應主要是感覺神經的作用，而交感神經的活性和一氧化氮的基礎濃度會影響其反應。本研究首先針對以往局部熱充血反應測試需加熱超過 30 分鐘的缺點，透過控制影響軸突反射的相關因素，使單純神經媒介的軸突反射血管擴張具有好的再測信度，省略採用最大血管擴張血流量所作之校正處理。在同一個測期裡，使用固定器固定測試點，則其微血管密度、感覺神經支配都相同，就可以達到這個目的。因此加熱時間縮短至 5 分鐘，在前臂背面同一個部位於 45 分鐘間隔後重複測試，其軸突反射熱充血反應呈現良好的再測信度。採用的指標以 peak CVC 及 peak CVC 改變量最為理想。因為在加熱時間 4 分鐘之內，所有受試者的血流量都已達到高峰值，所以測試時間可以縮短到基礎測量 5 分鐘及加熱 5 分鐘，即在每個測量位置上只要 10 分鐘之時間。在實際應用上，長時間加熱法的加熱時間超過 30 分鐘，而且兩個小時內不能在同一個部位重複測試，因此每個測試部位都需使用一個探頭，無法依序連續測量。而短時間加熱法可以使用較少的儀器，依序測量不同的部位。如果測試部位數量更多時，也只要增加少量頻道的儀器即可。因為加熱時間大幅縮短，局部血流恢復較快，因此不會產生順序效應，在兩次局部熱充血測試之間，可以施予立即的物理性或化學性介入，來探討其效應。因此本研究利用此一優點，在兩次測試之間給予辣椒素刺激，

並評估此辣椒素刺激所產生的效應。

影響局部熱充血反應最大的因素是感覺神經的功能，故此測試法具有應用於感覺神經功能評估的潛力。先前的方法採用隨機選取測試的部位，因此微血管密度變異大，且感覺神經纖維的分佈也不同，故儘管經由最大血管擴張血流量校正處理，其再測信度仍然不佳，因此無法應用於感覺神經功能之測試。本研究採用預先界定測量部位的選取規則來降低感覺神經纖維分佈的變異性，於間隔一段時間後重新定位測試部位，則其 peak CVC 及 peak CVC 改變量在測試前環境適應達 30 分鐘時，於人體右側前臂可獲得良好的再測信度。而如果將環境適應期增長到 60 分鐘後，也可以在左側前臂獲得可接受的再測信度。因此後續可針對正常人與特定病人族群的特定身體部位，建立正常值範圍，並探究可否用於評估特定病人族群的感覺神經功能，或作為長期追蹤病人感覺神經功能變化的指標。

本研究的第三個部份是利用辣椒素體表刺激，進行了上下肢解剖對稱部位的刺激反應關聯驗證。結果顯示辣椒素刺激右下肢（小腿）30 分鐘會增強右上肢（前臂）對應部位的局部熱充血反應，但對右上肢非對應部位及左上肢的局部熱充血反應則不影響。在左下肢給予辣椒素刺激則對左右兩側上肢的局部熱充血反應都不影響。如能進一步證明其確為局部交感神經興奮所致，則此刺激反應模式建立後，便可用在驗證各刺激部位與反應部位的關聯性上，用以建立完整的刺激反應對應圖譜。除此之外，本研究也藉助此方法，顯示上下肢之間可能存有體交感神經反射作用，其作用不僅具有解剖上特異性之對應關係，且左右側的反應並不相同。

以辣椒素刺激體表，在預期的對應部位可測得局部熱充血反應發生顯著改變後，接著可反過來利用電刺激在疾病的預測對應部位作治療，以觀察電刺激對目標部位所產生的血流量變化。本研究的第四部份採用大鼠後肢缺血之動物模式，以電刺激大鼠前肢觀察其效應。結果顯示在兩側後肢缺血後，前肢電刺激可以造

成後肢特定部位血流量之增加。但僅使用 125 Hz 之電刺激才可產生顯著提升血流量的效果，3 Hz 及 45 Hz 之電刺激則無法產生效果。此外，電刺激在不同側的前肢所產生的後肢血流量改變效應不同。血流量增加的現象在電刺激 9 分鐘之內就已產生，但僅於特定的部位發現，其他部位的血流量並無增加。因此推測可能經由體交感神經反射，使後肢特定部位的交感神經張力下降，進而增加血流。

雖然本研究採用的幾個實驗模式不同，生理狀態與病理狀態對於外界刺激的反應也可能不同，但在上（前）肢與下（後）肢的解剖對應部位，進行觀察其刺激反應的關聯性，無論是採用辣椒素刺激再以局部熱充血反應觀察其變化，或是電刺激再觀察缺血部位的血流量變化，都可以發現特異性的對應關係。這些刺激反應可能是經由神經的作用所致。理由包括：(1) 短時間內就產生，電刺激的效果在 9 分鐘之內就已產生，辣椒素刺激的作用也在 30 分鐘內就已呈現。(2) 左右側的刺激效果不同，辣椒素刺激使局部熱充血反應增強是「右側對右側」有反應，電刺激改善血流量則是「左側對左側」有效果。(3) 於有反應的部位鄰近處其他部位，辣椒素刺激的局部熱充血反應無改變，電刺激的血流量也無明顯的變化，代表其刺激反應具有部位的特異性。基於以上幾個所觀察到的現象，辣椒素刺激後局部熱充血反應被增強與電刺激後血流量增加的反應比較不像是透過體液性的全身廣泛性作用，比較像是經由神經的局部作用。

總而言之，本研究改良了局部熱充血反應的測試方法，不但大幅縮短檢測花費的時間，也克服了過去再測信度不佳的問題；使此方法可應用於測試特定部位是否會因介入性的刺激而產生特異性的反應。在證明此特異性反應為交感神經活性改變所致後，則可用於測試目標部位的交感神經活性之變化。因為此方法採用相同的測試部位來控制感覺神經的變異，因此也可進一步評估是否可應用於檢測感覺神經的功能。本研究也藉由辣椒素體表刺激的實驗，利用此方法發現上下肢之間的解剖對應部位之加熱後血流量在辣椒素刺激後產生特異性的改變，其對應規則在左側與右側不同。最後則採用電刺激實驗發現前後肢之間對應的特定部位

可以因電刺激而產生血流量的特異性改變，且其對應規則在左側與右側也不相同。因此，利用此兩種實驗模式，未來有機會建立刺激反應的對應規則，進而發展實用的標靶神經調節技術 (targeted neuromodulation)，臨床上將可運用於治療各種與神經與血液循環系統功能失調有關的疾病。



參考文獻

- Agarwal, S.C., et al., 2010. Comparative reproducibility of dermal microvascular blood flow changes in response to acetylcholine iontophoresis, hyperthermia and reactive hyperaemia. *Physiol. Meas.* 31, 1–11.
- Allen, R.J., 2006. Physical agents used in the management of chronic pain by physical therapists. *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* 17, 315–345.
- Barie, P.S., Mullins, R.J., 1988. Experimental methods in the pathogenesis of limb ischemia. *J. Surg. Res.* 44, 284–307.
- Bell, C., et al., 1985. Differentiation of vasodilator and sudomotor responses in the cat paw pad to preganglionic sympathetic stimulation. *J. Physiol.* 364, 93–104.
- Bickel, A., et al., 2009. C-fiber axon reflex flare size correlates with epidermal nerve fiber density in human skin biopsies. *J. Peripher. Nerv. Syst.* 14, 294–299.
- Binder, M.D., Mendell, L.M., 1990. *The Segmental Motor System*. Oxford, Oxford University Press.
- Blaisdell, F.W., 2002. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc. Surg.* 10, 620–630.
- Bland, M., 2000. *An Introduction to Medical Statistics*, third ed. Oxford University Press, London.
- Bonelli, R.M., Költringer, P., 2000. Autonomic nervous function assessment using thermal reactivity of microcirculation. *Clin. Neurophysiol.* 111, 1880–1888.
- Boushel, R., 2010. Muscle metaboreflex control of the circulation during exercise. *Acta. Physiol. (Oxf)*. 199, 367–383.
- Braverman, I.M., et al., 1990. Correlation of laser Doppler wave patterns with underlying microvascular anatomy. *J. Invest. Dermatol.* 95, 283–286.
- Brunt, V.E., et al., 2011. 17- β estradiol and progesterone independently augment

- cutaneous thermal hyperemia but not reactive hyperemia. *Microcirculation* 18, 347–355.
- Cannon, W.B., 1929. Organization for physiological homeostasis. *Physiol. Rev.* 9, 399–431.
- Carter, S.J., Hodges, G.J., 2011. Sensory and sympathetic nerve contributions to the cutaneous vasodilator response from a noxious heat stimulus. *Exp. Physiol.* 96, 1208–1217.
- Caselli, A. et al., 2003. Local anesthesia reduces the maximal skin vasodilation during iontophoresis of sodium nitroprusside and heating. *Microvasc. Res.* 66, 134–139.
- Charkoudian, N., et al., 1999. Influence of female reproductive hormones on local thermal control of skin blood flow. *J. Appl. Physiol.* 87, 1719–1723.
- Chau, D., et al., 1997. Sympathetically Correlated Activity of Dorsal Horn Neurons in Spinally Transected Rats. *J. Neurophysiol.* 77, 2966–2974.
- Chau, D., et al., 2000. Ongoing and Stimulus-Evoked Activity of Sympathetically Correlated Neurons in the Intermediate Zone and Dorsal Horn of Acutely Spinalized Rats. *J. Neurophysiol.* 83, 2699–2707.
- Chen, X.H., Han, J.S., 1992. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav. Brain Res.* 47, 143–149.
- Choi, E.M. et al., 2012. Point specificity in acupuncture. *Chin. Med.* 7, 4
- Chou, R., Huffman, L.H., 2007. American Pain Society; American College of Physicians. Medications for acute and chronic low back pain: a review of the evidence for an American Pain Society/American College of Physicians clinical practice guideline. *Ann. Intern. Med.* 147, 505–514.
- Ciplak, M., et al., 2009. The vasodilatory response of skin microcirculation to local heating is subject to desensitization. *Microcirculation* 16, 265–275.

- Clough, G., et al., 2009. Evaluation of a new high power, wide separation laser Doppler probe: potential measurement of deeper tissue blood flow. *Microvasc. Res.* 78, 155–161.
- Cracowski, J.L., et al., 2006. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol. Sci.* 27, 503–508.
- Craig, A.D., 2005. Forebrain emotional asymmetry: a neuroanatomical basis? *Trends Cogn. Sci.* 9, 566–571.
- Cramp, A.F., et al., 2000. The effect of high- and low-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation upon cutaneous blood flow and skin temperature in healthy subjects. *Clin. Physiol.* 20, 150–157.
- Cramp, F.L., et al., 2002. Transcutaneous electric nerve stimulation: the effect of intensity on local and distal cutaneous blood flow and skin temperature in healthy subjects. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 83, 5–9.
- Cravo, S.L., et al., 1995. Cardiovascular adjustments in limb retraction provoked by noxious stimulation in decerebrate and spinal cats. Evidence for a somatotopic organization. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 28, 385–396.
- Cravo, S.L., et al., 2003. Rostral ventrolateral medulla: an integrative site for muscle vasodilation during defense-alerting reactions. *Cell Mol. Neurobiol.* 23, 579–595.
- Deluze, C., et al., 1992. Electroacupuncture in fibromyalgia: results of a controlled trial. *Brit. Med. J.* 305, 1249–1252.
- den Uil, C.A., et al., 2008. The microcirculation in health and critical disease. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 51, 161–170.
- Donald, A. E., et al., 2008. Methodological approaches to optimize reproducibility and power in clinical studies of flow-mediated dilation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 51, 1959–1964.

- Dong, Z. et al., 2011. Evaluation of influence of acupuncture and electro-acupuncture for blood perfusion of stomach by laser Doppler blood perfusion imaging. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 2011, 969231.
- Drummond P.D., 2009. Alpha-1 adrenoceptor stimulation triggers axon-reflex vasodilatation in human skin. *Auton. Neurosci.* 151, 159–163.
- Drummond, P.D., Lipnicki, D.M., 1999. Noradrenaline provokes axon reflex hyperaemia in the skin of the human forearm. *J. Auton. Nerv. Syst.* 77, 39–44.
- Dubin, A.E., Patapoutian, A., 2010. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J. Clin. Invest.* 120, 3760–3772.
- Dubinsky, R.M., Miyasaki, J., 2010. Assessment: efficacy of transcutaneous electric nerve stimulation in the treatment of pain in neurologic disorders (an evidence-based review): report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 74, 173–176.
- Field, K.J., et al., 1993. Anaesthetic effects of chloral hydrate, pentobarbitone and urethane in adult male rats. *Lab. Anim.* 27, 258–269.
- Frantz, J., et al., 2012. Desensitization of thermal hyperemia in the skin is reproducible. *Microcirculation* 19, 78–85.
- Ge, H.Y., Arendt-Nielsen, L., 2011. Latent myofascial trigger points. *Curr. Pain Headache Rep.* 15, 386–392.
- Gibbins, I. L., Morris, J. L., 2000. Pathway specific expression of neuropeptides and autonomic control of the vasculature. *Regul. Peptides* 93, 93–107.
- Gibbins, I. L., et al., 2003. Functional organization of peripheral vasomotor pathways. *Acta. Physiol. Scand.* 177, 237–245.
- Goats, G.C., 1994. Massage--the scientific basis of an ancient art: Part 2. Physiological and therapeutic effects. *Br. J. Sports Med.* 28, 153–156.

- Groetzner, P., Weidner, C., 2010. The human vasodilator axon reflex - an exclusively peripheral phenomenon? *Pain* 149, 71–75.
- Guyatt, G., et al., 1987. Measuring change over time: assessing the usefulness of evaluative instruments. *J. Chronic Dis.* 40, 171–178.
- Hahm, T.S., 2007. The effect of 2 Hz and 100 Hz electrical stimulation of acupoint on ankle sprain in rats. *J. Korean Med. Sci.* 22, 347–351.
- Han, Z., et al., 1999. Endomorphine-1 mediates 2 Hz but not 100 Hz electroacupuncture analgesia in the rat. *Neurosci. Lett.* 274, 75–78.
- Hippisley-Cox, J., et al., 2005. Risk of adverse gastrointestinal outcomes in patients taking cyclo-oxygenase-2 inhibitors or conventional non-steroidal anti-inflammatory drugs: population based nested case-control analysis. *BMJ.* 331, 1310-1316.
- Hodges, G.J., et al., 2008. The involvement of norepinephrine, neuropeptide Y, and nitric oxide in the cutaneous vasodilator response to local heating in humans. *J. Appl. Physiol.* 105, 233–240.
- Hodges, G.J., et al., 2009. The involvement of heating rate and vasoconstrictor nerves in the cutaneous vasodilator response to skin warming. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 296, H51–56.
- Holzer, P., 1992. Peptidergic sensory neurons in the control of vascular functions: mechanisms and significance in the cutaneous and splanchnic vascular beds. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 121, 49–146.
- Hornyak, M. E., et al., 1990. Sympathetic activity influences the vascular axon reflex in the skin. *Acta Physiol. Scand.* 139, 77–84.
- Houghton, B.L. et al., 2006. Nitric oxide and norepinephrine contribute to the temperature threshold of the axon reflex response to gradual local heating in human skin. *J. Physiol.* 572,811–820.

- Huang, C., 2004. Attenuation of mechanical but not thermal hyperalgesia by electroacupuncture with the involvement of opioids in rat model of chronic inflammatory pain. *Brain Res. Bull.* 63, 99–103.
- Huang, C.S., Tsai, Y.F., 2009. Somatosympathetic reflex and acupuncture-related analgesia. *Chin. J. Physiol.* 52, 345–357.
- Huang, C. S., et al., 2012. Axon reflex-related hyperemia induced by short local heating is reproducible. *Microvasc. Res.* 84, 351–355.
- Huang, C.S., et al., 2013. Increasing acclimation period improves the reproducibility of short-heating local thermal hyperemia. *Microvasc. Res.* 85, 93–98.
- Iellamo, G., et al., 1996. Evaluation of reproducibility of spontaneous baroreflex sensitivity at rest and during laboratory tests. *J. Hypertens.* 14, 1099–1104.
- Izumi, H., 1999. Nervous control of blood flow in the orofacial region. *Pharmacol. Ther.* 81, 141–161.
- Jänig, W., 1988. Pre- and postganglionic vasoconstrictor neurons: differentiation, types, and discharge properties. *Annu. Rev. Physiol.* 50, 525–539.
- Jänig, W., Szulczyk, P., 1981. The organization of lumbar preganglionic neurons. *J. Auton. Nerv. Syst.* 3, 177–191.
- Jenelle, D.R., Michael, R.V., 2002. Cellular Mechanisms of Neurogenic Inflammation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 302, 839–845.
- Jette, A. M., et al., 2007. Interpreting rehabilitation outcome measurements. *J. Rehabil. Med.* 39, 585–590.
- Johnson, J.M., Kellogg, D.L. Jr., 2010. Local thermal control of the human cutaneous circulation. *J. Appl. Physiol.* 109, 1229–1238.
- Juvin, L., et al., 2005. Propriospinal circuitry underlying interlimb coordination in mammalian quadrupedal locomotion. *J. Neurosci.* 25, 6025–6035.
- Kagitani, F., et al., 2010. Afferent nerve fibers and acupuncture. *Auton. Neurosci.* 157,

2–8.

Kellogg D.L. Jr., 2006. In vivo mechanisms of cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans during thermoregulatory challenges. *J. Appl. Physiol.* 100, 1709–1718.

Kellogg, D.L. Jr., et al., 1999. Role of nitric oxide in the vascular effects of local warming of the skin in humans. *J. Appl. Physiol.* 86, 1185–1190.

Kellogg, D.L. Jr., et al., 2009. Roles of nitric oxide synthase isoforms in cutaneous vasodilation induced by local warming of the skin and whole body heat stress in humans. *J. Appl. Physiol.* 107, 1438–1444.

Kerman, I. A., Yates, B. J., 1999. Patterning of somatosympathetic reflexes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physio.* 277, 716–724.

Kimura, A., Sato, A., 1997. Somatic regulation of autonomic functions in anesthetized animals--neural mechanisms of physical therapy including acupuncture. *Jpn. J. Vet. Res.* 45, 137–145.

Koo, S.T., et al., 2002. Acupuncture analgesia in a new rat model of ankle sprain pain. *Pain* 99, 423–431.

Koo, S.T., et al., 2008 Electroacupuncture-induced analgesia in a rat model of ankle sprain pain is mediated by spinal alpha-adrenoceptors. *Pain* 135, 11–19.

Kramer, H.H., et al., 2004. Electrically stimulated axon reflexes are diminished in diabetic small fiber neuropathies. *Diabetes* 53, 769–774.

Krishnan, S. T., Rayman, G., 2004. The LDiflare: a novel test of C-fiber function demonstrates early neuropathy in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 27, 2930–2935.

Krishnan, S. T., et al., 2009. Abnormal LDiflare but normal quantitative sensory testing and dermal nerve fiber density in patients with painful diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 32, 451–455.

Kumada, M., et al., 1978. Hemodynamic similarities between the trigeminal and

- aortic vasodepressor responses. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 234, H67–73.
- Lao, L., et al., 2001. Electro-acupuncture attenuates behavioral hyperalgesia and selectively reduces spinal fos protein expression in rats with persistent inflammation. *J. Pain* 2, 111–117.
- Lao, L., et al., 2004. A parametric study of electroacupuncture on persistent hyperalgesia and Fos protein expression in rats. *Brain Res.* 10, 18–29.
- Landis, J.R., Koch, G.G., 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33, 159–174.
- Lee, J.H., Beitz, A.J., 1993. The distribution of brain-stem and spinal cord nuclei associated with different frequencies of electroacupuncture analgesia. *Pain* 52, 11–28.
- Liao, J.M., et al., 2002. Electroacupuncture at Hoku elicits dual effect on autonomic nervous system in anesthetized rats. *Neurosci. Res.* 42, 15–20.
- Lin, J.G., et al., 2002. The effect of high and low frequency electroacupuncture in pain after lower abdominal surgery. *Pain* 99, 509–514.
- Lin, J.G., Chen, W.L., 2008. Acupuncture analgesia: a review of its mechanisms of actions. *Am. J. Chin. Med.* 36, 635–645.
- Lipman, A.G., 2005. Pain as a human right: the 2004 Global Day Against Pain. *J. Pain Palliat. Care Pharmacother.* 19, 85–100.
- Lockhart, C.J., et al., 2009. End-organ dysfunction and cardiovascular outcomes: the role of the microcirculation. *Clin. Sci. (Lond).* 116, 175–190.
- Long, D. A., 1994. Hand differences and reported intensity of nociceptive stimuli. *Percept. Mot. Skills* 79, 411–417.
- Lugo, M., et al., 2002. Sensory lateralization in pain subjective perception for noxious heat stimulus. *Somatosens. Mot. Res.* 19, 207–212.
- Lundberg, J., et al., 1989. Direct evidence of active sympathetic vasodilatation in the

- skin of the human foot. *J. Physiol.* 417, 437–446.
- Lynn, B., 1990. Capsaicin: actions on nociceptive C-fibres and therapeutic potential. *Pain* 41, 61–69.
- Macefield, V.G., et al., 2002. Firing properties of single postganglionic sympathetic neurones recorded in awake human subjects. *Auton. Neurosci. Basic Clin.* 95, 146–159.
- Magerl, W., Treede, R. D., 1996. Heat-evoked vasodilation in human hairy skin: axon reflexes due to low-level activity of nociceptive afferents. *J. Physiol.* 497, 837–848.
- Mäkitie, J., Teräväinen, H., 1977. Peripheral nerve injury and recovery after temporary ischemia. *Acta. Neuropathol.* 37, 55–63.
- Martin, H.L., et al., 1995. Maximal skin vascular conductance in subjects aged 5-85 yr. *J. Appl. Physiol.* 79, 297–301.
- McEwen, B.S., Wingfield, J.C., 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm. Behav.* 43, 2–15.
- Melzack, R., et al., 1965. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150, 971–979.
- Miller, S., van der Meche, F.G., 1976. Coordinated stepping of all four limbs in the high spinal cat. *Brain Res.* 109, 395–398.
- Minson, C. T., 2002. Decreased nitric oxide- and axon reflex-mediated cutaneous vasodilation with age during local heating. *J. Appl. Physiol.* 93, 1644–1649.
- Minson, C.T., 2010. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin. *J. Appl. Physiol.* 109, 1239–1246
- Minson, C.T., et al., 2001. Nitric oxide and neurally mediated regulation of skin blood flow during local heating. *J. Appl. Physiol.* 91, 1619–1626.
- Morrison, S.F., 2001. Differential control of sympathetic outflow. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 281, R683–R698.

- Morrison, S.F., Reis, D.J., 1989. Reticulospinal vasomotor neurons in the RVL mediate the somatosympathetic reflex. *Am. J. Physiol.* 256, R1084–1097.
- Morrison, S.F., Reis, D.J., 1991. Responses of sympathetic preganglionic neurons to rostral ventrolateral medullary stimulation. *Am. J. Physiol.* 261, R1247–1256.
- Nicotra, A., et al., 2004. Skin vasodilator response to local heating in human chronic spinal cord injury. *Eur. J. Neurol.* 11, 835–837.
- Noguchi, E., et al., 1999. The effect of electro-acupuncture stimulation on the muscle blood flow of the hindlimb in anesthetized rats. *J. Auton. Nerv. Syst.* 75, 78–86.
- O'Leary, D.S., 1991. Regional vascular resistance vs. conductance: which index for baroreflex responses? *Am. J. Physiol.* 260, H632–637.
- Pedowitz, R.A., 1991. Tourniquet-induced neuromuscular injury. A recent review of rabbit and clinical experiments. *Acta. Orthop. Scand. Suppl.* 245, 1–33.
- Piesur-Strehlow, B., Meinck, H.M., 1980. Response patterns of human lumbo-sacral motoneurone pools to distant somatosensory stimuli. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 48, 673–682.
- Raimondi, G., et al., 1991. Cardiorespiratory effects evoked by electrical stimulation of somatic afferent fibers. *Funct. Neurol.* 6, 243–247.
- Romero, L.M., et al., 2009. The Reactive Scope Model - a new model integrating homeostasis, allostasis, and stress. *Horm. Behav.* 55, 375–389.
- Roustit, M., et al., 2010a. Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvasc. Res.* 79, 102–108.
- Roustit, M., et al., 2010b. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. *Microvasc. Res.* 80, 505–511.
- Sandrini, G., et al., 2005. The lower limb flexion reflex in humans. *Prog. Neurobiol.* 77, 353–395.

- Sanghi, S., et al., 2006. Cyclooxygenase-2 inhibitors: a painful lesson. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets* 6, 85–100.
- Sapega, A.A., et al., 1985. Optimizing tourniquet application and release times in extremity surgery. A biochemical and ultrastructural study. *Bone Joint Surg. Am.* 67, 303–314.
- Sarlani, E., et al., 2003. Gender and laterality differences in thermosensation throughout the perceptible range. *Pain* 106, 9–18.
- Sato, A., 1997. Neural mechanisms of autonomic responses elicited by somatic sensory stimulation. *Neurosci. Behav. Physiol.* 27, 610–621.
- Sato, A., Schmidt, R.F., 1973. Somatosympathetic reflexes: Afferent fibers, central pathways, discharge characteristics. *Physiol. Rev.* 53, 916–947.
- Schmelz, M., et al., 2000. Which nerve fibers mediate the axon reflex flare in human skin? *Neuroreport* 11, 645–648.
- Schmelzer, J.D. et al., 1989. Ischemic and reperfusion injury of rat peripheral nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86, 1639–1642.
- Schmidt, R., et al., 2002. Innervation territories of mechano-insensitive C nociceptors in human skin. *J. Neurophysiol.* 88, 1859–1866.
- Schoen, M., et al., 2007. Ischemic preconditioning prevents skeletal muscle tissue injury, but not nerve lesion upon tourniquet-induced ischemia. *J. Trauma* 63, 788–797.
- Shah, J.P., Gilliams, E.A., 2008. Uncovering the biochemical milieu of myofascial trigger points using in vivo microdialysis: an application of muscle pain concepts to myofascial pain syndrome. *J. Bodyw. Mov. Ther.* 12, 371–384.
- Shastry, S., Joyner, M.J., 2002. Geldanamycin attenuates NO-mediated dilation in human skin. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 282, H232–236.
- Sherrington, C.S., Laslett, E.E., 1903. Observations on some spinal reflexes and the

- interconnection of spinal segments. *J. Physiol.* 29, 58–96.
- Simons, D.G., Travell, J.G., 1981. Myofascial trigger points, a possible explanation. *Pain* 10, 106–109.
- Simons, D.G., Travell, J.G., 1999. Myofascial pain and dysfunction. The trigger point manual. Baltimore, Williams and Wilkins. pp. 11–93.
- Stansberry, K.B., et al., 1999. Primary nociceptive afferents mediate the blood flow dysfunction in non-glabrous (hairy) skin of type 2 diabetes: a new model for the pathogenesis of microvascular dysfunction. *Diabetes Care* 22, 1549–1554.
- Stener-Victorin, E. et al., 2003. Ovarian blood flow responses to electro-acupuncture stimulation at different frequencies and intensities in anaesthetized rats. *Auton. Neurosci.* 108, 50–56.
- Sterling, P., Eyer, J., 1988. Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology, in: Fisher, S., Reason, J. (Eds.), *Handbook of Life Stress, Cognition and Health*, Wiley, New York, pp. 629–649.
- Strain, W.D., et al., 2012. Microcirculation on a large scale: techniques, tactics and relevance of studying the microcirculation in larger population samples. *Microcirculation* 19, 37–46.
- Struijker-Boudier, H.A., et al., 2012. Phenotyping the microcirculation. *Hypertension* 60, 523–527.
- Takagi, K. et al., 2005. Effects of electroacupuncture stimulation applied to limb and back on mesenteric microvascular hemodynamics. *Jpn. J. Physiol.* 55, 191–203.
- Taylor D. J., et al., 1993. Body site variation of heat pain sensitivity. *Somatosens. Mot. Res.* 10, 455–465.
- Tesselaar, E., Sjöberg, F., 2011. Transdermal iontophoresis as an in-vivo technique for studying microvascular physiology. *Microvasc. Res.* 81, 88–96.
- Tew, G.A., et al., 2011. Reproducibility of cutaneous thermal hyperaemia assessed by

- laser Doppler flowmetry in young and older adults. *Microvasc. Res.* 81, 177–182.
- Thomas, D. et al., 1992. Somatic sympathetic vasomotor changes documented by medical thermographic imaging during acupuncture analgesia. *Clin. Rheumatol.* 11, 55–59.
- Tiidus, P.M., 1999. Massage and ultrasound as therapeutic modalities in exercise-induced muscle damage. *Can. J. Appl. Physiol.* 24, 267–278.
- Tsuru, H., Kawakita, K., 2009. Acupuncture on the blood flow of various organs measured simultaneously by colored microspheres in rats. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 6, 77–83.
- Uchida, S., Hotta, H., 2008. Acupuncture affects regional blood flow in various organs. *Evid. Based. Complement Alternat. Med.* 5, 145–151.
- Vadivelu, N., Sinatra, R., 2005. Recent advances in elucidating pain mechanisms. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* 18, 540–547.
- Wallengren, J., Hakanson, R., 1987. Effects of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in human skin and their involvement in sensory nerve-mediated responses. *Eur. J. Pharmacol.* 143, 267–273.
- Wallin, B. G., et al., 2001. Thin fibre territories of nerves innervating hairs in the human forearm estimated from axon reflex vasodilatations. *J. Physiol.* 535, 249–260.
- Walter, S. D., et al., 1998. Sample size and optimal designs for reliability studies. *Stat. Med.* 17, 101–110.
- Wang, J.Q., et al., 1992. Comparison of the antinociceptive effects induced by electroacupuncture and transcutaneous electrical nerve stimulation in the rat. *Int. J. Neurosci.* 65, 117–129.
- Wårdell, K., et al., 1994. Spatial heterogeneity in normal skin perfusion recorded with laser Doppler imaging and flowmetry. *Microvasc. Res.* 48, 26–38.

- Weidner, C., et al., 2000. Acute effects of substance P and calcitonin gene-related peptide in human skin - a microdialysis study. *J. Invest. Dermatol.* 115, 1015–1020.
- Widmer, R. J. et al., 2008. The origin of the biphasic flow response to local heat in skin. *Microcirculation* 15, 349–357.
- Wong, B. J., Fieger, S. M., 2010. Transient receptor potential vanilloid type-1 (TRPV-1) channels contribute to cutaneous thermal hyperaemia in humans. *J. Physiol.* 588, 4317–4326.
- Yamanaka, Y., et al., 2007. Skin vasodilator response to local heating in multiple system atrophy. *Mov. Disord.* 22, 2405–2408.
- Yang, E.S., et al., 2011. Ancient Chinese medicine and mechanistic evidence of acupuncture physiology. *Pflugers Arch.* 462, 645–653.
- Yu, Y.H., Blessing, W.W., 1998. Constriction of the ear pinna vascular bed accompanies the trigeminal depressor response in rabbits. *Neurosci. Lett.* 255, 172–174.
- Zang, W.T., et al., 2003. Relations between brain network activation and analgesic effect induced by low vs. high frequency electrical acupoint stimulation in different subjects: functional magnetic resonance imaging study. *Brain Res.* 982, 168–178.
- Zehr, E. P., Duysens, J., 2004. Regulation of arm and leg movement during human locomotion. *J. Neuroscientis.* 10, 347–361.
- Zehr, E.P., et al., 2001. Human interlimb reflexes evoked by electrical stimulation of cutaneous nerves innervating the hand and foot. *Exp. Brain Res.* 140, 495–504.
- Zhang, J., et al., 2006. Adverse effects of cyclooxygenase 2 inhibitors on renal and arrhythmia events: meta-analysis of randomized trials. *JAMA.* 296, 1619–1632.
- Zhang, R.X., et al., 2005. Electroacupuncture attenuates inflammation in a rat model.

J. Altern. Complement Med. 11, 135–142.

鍾傑，1986。臨床實用阿是穴圖解。正光書局，台北市。

楊維傑，2005。針灸寶典。美國中華文化中心，美國加州。

