

參、實驗結果

一、Anandamide 對心肺功能的影響

大鼠在麻痺狀態下由頸靜脈注射 anandamide 會引起肺化學反射 (pulmonary chemoreflex)，其特徵包括呼吸暫停 (apnea)、降壓 (hypotension) 及抑心作用 (bradycardia) 等反應 (圖一A, B, 及C)。

注射中劑量 (0.5 mg/kg) 與高劑量 (1 mg/kg) 的 anandamide 會誘發呼吸暫停，時間隨劑量增加而延長，分別為 2.7 ± 0.3 秒與 5.4 ± 1.0 秒，和注射前呼氣時間的基礎值 (0.65 ± 0.03 秒) 相比有顯著差異 (圖二A, $P < 0.01$)，低劑量 (0.25 mg/kg) 的 anandamide 雖也會誘發的呼氣延長，但在統計上並不明顯 ($P > 0.05$)。

Anandamide 在麻痺的大鼠誘發明顯的心血管反應。低、中與高劑量的 anandamide 處理後，心跳速率由每分鐘 457.2 ± 6.3 次分別降低了 66.88 ± 8.30 、 85.88 ± 6.63 及 92.70 ± 6.85 次 (圖七A, $P < 0.01$)。血壓受中劑量與高劑量 anandamide 的影響而顯著下降，由基礎值 87.5 ± 3.8 mmHg 分別降低了 11.52 ± 2.21 與 12.20 ± 2.86 mmHg (圖七B, $P < 0.01$)。

由於中劑量 (0.5 mg/kg) 與高劑量 (1 mg/kg) anandamide 對血壓、喉返神經的影響非常相似，因此，往後所進行的實驗都以中劑量為實驗劑量。觀察聲門運動所採用的是自動呼吸的動物，在自動呼吸

的大鼠所誘發的肺化學反射非常地明顯 (圖十三A)。呼吸暫停時間由呼氣時間基礎值 0.39 ± 0.01 秒延長為 3.7 ± 1.1 秒 ($p < 0.01$)，心跳由平均每分鐘 425.5 ± 8.6 次減少為每分鐘 45.5 ± 10.1 次 ($P < 0.01$)，下降的幅度與麻痺動物相比差別甚大。血壓則由處理前平均 79.6 ± 2.3 mmHg 降低為 51.6 ± 2.2 mmHg ($P < 0.01$)。

Anandamide 溶劑無論在自動呼吸或人工送氣的大鼠皆不引起明顯的心肺反應。

二、Anandamide 對膈神經、喉返神經內收支及外展支活性的影響

(一) Anandamide 對膈神經活性 (PNA) 的抑制作用

由右頸靜脈注射中、高劑量的 anandamide (0.5 及 1 mg/kg) 會引起呼吸暫停，膈神經活性受到抑制，縮短吸氣時間並延長呼氣時間 (圖一 B 及 C)。低與中劑量 (0.25 及 0.5 mg/kg) anandamide 處理後的呼吸暫停期間，膈神經活性受到抑制，呼吸暫停恢復後，膈神經活性與基礎值相比，在第一次呼吸週期與第二次呼吸週期的活動高度分別是處理前的 84.53% 與 80.07% 以及 81.89% 與 79.26%，依然受到明顯的抑制，接著才逐漸恢復 (圖三 A, $P < 0.01$)，然而高劑量 anandamide 對膈神經活性高度雖也會抑制作用，可是降低程度反而沒有達顯著水準 (圖三 A, $P > 0.05$)。

在呼吸暫停恢復之後的立即反應，也就是第一次呼吸週期的吸氣時間與呼氣時間的反應，低劑量 (0.25 mg/kg) anandamide 對呼吸型態沒有顯著影響，中劑量 (0.5 mg/kg) anandamide 促使動物的吸氣時間 (inspiratory duration; T_I) 由基礎值 0.29 ± 0.01 秒縮短為 0.17 ± 0.02 秒，高劑量 (1 mg/kg) anandamide 則使吸氣時間由 0.28 ± 0.02 秒縮短為 0.15 ± 0.02 秒 (圖四 A, $P < 0.01$)，這種呼吸型態的變化約維持兩個呼吸週期，至第三呼吸週期之後才逐漸恢復。而呼氣時間 (expiratory duration; T_E) 僅在第一次呼吸週期延長 (0.5 mg/kg 使之由平均 0.62 ± 0.03 秒延長為 0.77 ± 0.03 , $P < 0.05$; 1 mg/kg 使之由平均 0.65 ± 0.03 秒延長為 0.91 ± 0.09 秒, $P < 0.01$, 圖四 B)，接著就逐漸恢復。給予 anandamide 的溶劑對膈神經活性，無論是高度、吸氣時間以及呼氣時間都沒有明顯的影響 (圖一 D)。

(二) Anandamide 對喉返神經內收支活性 (Add RLNA) 的興奮作用

從右頸靜脈注射 anandamide 會興奮喉返神經內收支，呈現高度增強的現象，這種增強作用不但發生於呼吸暫時停止時間，即使從呼吸暫停恢復之後，其高度仍然顯著地高於給藥之前 (圖一)。不僅如此，神經放電的起始時間也提前 (圖五)。在中、高劑量 anandamide 誘發的呼吸暫停期間，內收支活性受到興奮的程度達到最大，分別提

高了 480.64% 與 523.39% (圖二 B, $P < 0.01$)。呼吸暫停結束後，喉返神經內收支活性依然處在興奮的狀態，恢復後第一次呼吸週期神經活性高度分別為給藥前的 399.39% 與 379.65%，至第六次呼吸週期之後才開始逐漸恢復到給藥前的神經活性 (圖三 B, $P < 0.05$)。中、高劑量的 anandamide 對喉返神經內收支所引起之興奮作用，在程度上並沒有顯著差異。注射 anandamide 的溶劑對內收支活性不造成任何的影響。

(三) Anandamide 對喉返神經外展支活性 (Abd RLNA) 的抑制作用

投予三種劑量 anandamide (0.25, 0.5 及 1 mg/kg) 所誘發之呼吸暫停期間，喉返神經外展支的活性皆完全被抑制 (圖一 B, C 及 D)。呼吸暫停結束、恢復呼吸節奏後，第一次呼吸週期的外展支活性所受抑制程度僅 86.16%、80.68% 及 87.29%，未達顯著 (圖三 C, $P > 0.05$)。Anandamide 溶劑不影響外展支活性。

(四) Anandamide 對喉返神經內收支及外展支放電模式的影響

注射 anandamide (0.5 mg/kg) 會使喉返神經內收支放電起始時間 (onset time) 提前，而使外展支放電起始時間延後 (圖五)。一般將呼氣時期區分為第一期呼氣 (stage I expiration) 與第二期呼氣 (stage II expiration) (圖五B-a)。在高氧而二氧化碳濃度正常，以及呼吸末壓

力 (post-end expired pressure) 維持在 3 cmH₂O 的實驗條件下，喉返神經內收支的活動時間 (圖五B-a中之實線3) 原本是在膈神經活動降低時才開始，即第一期呼氣，也就是所謂的吸氣後活動 (post-inspiratory activity)，可是在 anandamide 的作用下，卻提前於吸氣時期就開始活動起來，甚至較膈神經還要早放電 (圖五B-b中之實線4位於實線5之前)。不僅如此，喉返神經內收支受 anandamide 的作用之後，其放電時間還會延長，由第一期呼氣延長至第二期呼氣，再加上放電起始時間提前至吸氣，使得內收支的放電模式由原本的節律性 (phasic) 放電轉變為連續性 (tonic) 放電，不過在膈神經吸氣活性達最高點時會暫時稍稍降低 (圖五A與B-b)。相對地，外展支具吸氣活動 (圖五B-a)，而其真正的起始活動時間 (圖五B-a中之實線1) 會稍早於膈神經放電 (圖五B-a中之實線2)，注射 anandamide (0.5 mg/kg) 之後，喉返神經外展支的放電時間變成些微落後於膈神經放電 (圖五B-b中之實線6位於實線5之後)。在所觀察的四隻動物中，三個劑量 (0.25、0.5及1 mg/kg) 的 anandamide 皆使外展支的起始活動顯著地延後，平均值分別從提前 -122.9 ± 16.7 ms 變為延後 48.0 ± 36.6 ms、 39.4 ± 10.9 、 68.4 ± 17.7 ms (圖六， $P < 0.05$)。

三、拮抗劑對 anandamide 作用的影響

由於中與高劑量 anandamide 對喉返神經內收支與外展支的影響相差極小，且高劑量對膈神經的抑制作用並不明顯，所以，在拮抗劑的實驗僅採用中劑量 anandamide (0.5 mg/kg)。實驗時事先給予 anandamide，然後再預先處理 TRPV1 接受器的拮抗劑 capsazepine (CZP, 4.5 mg/kg)，之後再投予中劑量的 anandamide，以觀察 capsazepine 對中劑量 anandamide 所誘發的影響，結果顯示 anandamide 所引起的肺化學反射、呼吸型態改變、喉返神經內收支興奮及外展支抑制反應，都完全被 capsazepine 所阻斷 (圖八 A)。因此，在 capsazepine 預處理之後，中劑量 anandamide 就不再誘發呼吸暫停、抑心作用與降壓反應 (圖八 A、圖九 A 及圖十二)，呼吸暫停恢復之後的呼吸型態也不再有任何變化 (圖十一)，喉返神經內收支不會再有興奮反應 (圖八 A、圖九 B 及圖十 B)，外展支也不再受到抑制 (圖八 A 及圖十 C)。相對地，若預先處理 CB1 接受器的拮抗劑 AM281 (0.3 mg/kg)，對 anandamide 所引起的反射性作用則沒有影響 (圖八 B, 圖九-十二)。

四、Anandamide 對聲門運動的影響

藉由解剖顯微鏡 (Wild) 觀察以及數位相機連續拍攝，可以記錄到大鼠聲門在呼吸週期間的連續動作。這部分的實驗動物是麻醉後，

讓其自動呼吸，也是僅投予中劑量 (0.5 mg/kg) anandamide，實驗時同時記錄橫膈肌的肌電圖。正常呼吸週期下可以觀察到大鼠吸氣時聲門外展 (圖十三 B)，取 anandamide 投予前五個呼吸週期分析，分析時是取聲門的面積最大值與最小值，理由是吸氣時，聲門外展至最大，呼氣時聲門內收至最小，得吸氣面積平均值為 $1.18 \pm 0.06 \text{ mm}^2$ (圖十三 C)；呼氣時聲門內收 (圖十三 B)，面積平均值為 $0.46 \pm 0.05 \text{ mm}^2$ (圖十三 C)。在注射 anandamide 所誘發的呼吸暫停期間，聲門緊緊關閉 (圖十三 B 及 C, $P < 0.01$ ，與正常呼氣時的聲門面積相比)。呼吸暫停恢復之後，第一個呼吸週期吸氣時聲門面積平均為 $0.56 \pm 0.29 \text{ mm}^2$ ，較給藥前為小 (圖十三 B 及 C, $P < 0.01$ ，與正常吸氣時的聲門面積比較， $n=4$)，呼氣時聲門依然緊閉。聲門緊閉的現象約在一分鐘後才逐漸恢復。