

國立臺灣師範大學體育學系
博士學位論文

不同落地訓練時期
對成長中母鼠骨骼之影響

研究生：林欣仕
指導教授：王鶴森
共同指導教授：黃滄海

中華民國 101 年 8 月
中華民國臺北市

口試委員與系主任簽字之論文通過簽名表

國立臺灣師範大學體育學系博士論文通過簽名表

系所別：體育學系

姓名：林欣仕

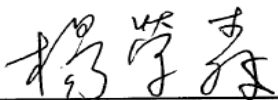
學號：897300180

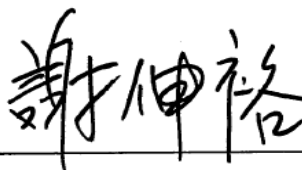
博士論文題目：不同落地訓練時期對成長中母鼠骨骼之影響

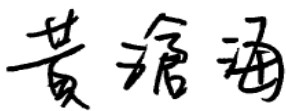
經審查合格，特予證明

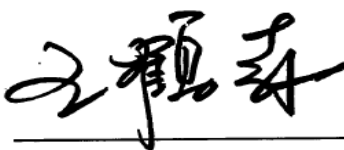
論文口試委員

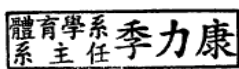
 林正常 教授
文化大學 教練研究所

 楊榮森 教授
國立台灣大學 醫學院

 謝伸裕 教授
國立臺灣師範大學 運動科學研究所

 黃滄海 副教授
國立成功大學 體育健康與休閒研究所
論文共同指導教授

 王鶴森 副教授
國立臺灣師範大學 體育學系
論文指導教授

系主任簽章：

中華民國101年7月17日

論文授權書

不同落地訓練時期對成長中母鼠骨骼之影響

2012 年 8 月

研究生：林欣仕

指導教授：王鶴森

共同指導教授：黃滄海

摘要

目的：探討不同時間長度之落地訓練對骨骼的影響，以釐清骨骼適應高衝擊性運動在時間序列上的變化。**方法：**使用 96 隻週齡 7 週的 Wistar 雌性大鼠，在四個時間點分別設置落地訓練組與對照組，每組動物數為 12，依序為 1 週落地訓練組 (E1)、1 週對照組 (C1)、2 週落地訓練組 (E2)、2 週對照組 (C2)、4 週落地訓練組 (E4)、4 週對照組 (C4)、8 週落地訓練組 (E8)、8 週對照組 (C8)，落地訓練組每日接受 30 次自 40 公分的高處落下著地之訓練，並於每週的第一次訓練與第五次訓練架設測力板以記錄地面反作用力 (ground reaction force, GRF) 作為運動強度探討；對照組則維持正常的籠內活動。各組實驗動物分別於 4 個時間點 (訓練 1、2、4 及 8 週之後) 犧牲，並採集其左右的股骨與脛骨，進行骨密度、組織型態、組織生物力學、斷面參數等測量與分析。採用獨立樣本 t 檢定與單因子變異數分析 ($\alpha=.05$)。**結果：**大鼠在第一週第一天的落地 GRF 值顯著高於其他時間點 ($p<.05$)；股骨的皮質骨面積與厚度呈現 E1 顯著低於 C1、E4 顯著高於 C4，脛骨則是 E8 在皮質骨面積、皮質骨厚度及斷面轉動慣量矩顯著高於 C8；股骨與脛骨海綿骨的骨生成指數 (鹼性磷酸酶染色)、骨密度與結構參數 (包括骨量比率及骨小樑厚度) 皆為 E8 顯著高於 C8 組，而脛骨的海綿骨骨吸收指數 (破骨細胞數) 則是 E8 顯著低於 C8；股骨的斷裂負荷值 E1 顯著低於 C1，而 E8 的股骨與脛骨皆有顯著高於 C8 的斷裂負荷值。**結論：**皮質骨承受落地訓練初期時會因衝擊過大造成骨骼結構與骨生物力學強度暫時性的變弱，經過長期訓練適應之後則可恢復並增強；對快速成長中之海綿骨而言，訓練初期雖無法觀察到訓練效果，唯長期訓練則可呈現結構強化並提升骨密度。

關鍵詞：運動、高衝擊、骨再塑、動物模型

Effect of Free-fall Landing Training in Different Training Periods on Bone: An Animal Study in Growing Female Rats

August, 2012

Graduate student: Hsin-Shih Lin

Advisor: Ho-Seng Wang

Co-Advisor: Tsang-Hai Huang

Abstract

Purpose: To investigate the effects of a time course free-fall landing training on bone metabolism in growing female rats. **Methods:** Ninety-six rats (7 weeks old) were assigned into eight groups (n=12/group), which were E1, E2, E4 E8, C1, C2, C4 and C8. Animals of the E1, E2, E4 and E8 groups were respectively subjected to 1, 2, 4 and 8 weeks free-fall landing training, in which animals were free-fallen from a height of 40 cm for 30 times per day; 5 days per week. The C1, C2, C4 and C8 groups served as the time matched groups. Additionally, we collected ground reaction force (GRF) data from force plate on day 1 and day 5 every week for 8 weeks. We used methods of micro-computed tomography (μ CT), static histomorphometry, geometry measurement and tissue biomechanical testing to estimate the effects of free fall landing on growing bone. **Results:** Peak GRF on day 1 in first week was significantly higher than other time points ($p < .05$). In the geometry measurement of femur, E1 group was significantly lower than C1 group whereas E4 was significantly higher than C4 in cortical area and thickness. In addition, E8 group was significantly higher than C8 in cortical area, cortical thickness and cross-sectional moment of inertia of tibiae. In trabecular bone formation index (alkaline phosphatase staining), bone mineral density and trabecular architectures (e.g. bone volume ratio, trabecular thickness) of femora and tibiae, E8 groups were significantly higher than C8 groups. In addition, E8 was significantly lower than C8 in trabecular bone resorption index (osteoclast number) of tibiae. In Biomechanical testing, fracture load of femora was significantly lower in E1 group as compared to C1. Conversely, E8 group was higher than C8 group in femora and tibiae. **Conclusion:** Landing training would cause a transiently compromised bone material in initial phase of cortical bone, and a recovery and enhancement in bone strength would occur following a longer period of training. Efficacy of landing training on trabecular bone was only showed after the 8-week training period.

Key words: exercise, high-impact, bone remodeling, animal mode

謝誌

博士學位，從未想過追尋的理想，如今卻出現在我的生命裡。

對我而言，得以完成如此夢幻般的博士學位需要感謝很多人，首先是我的指導教授：王鶴森老師。初進師大體育系大家庭，人際關係與生活環境極不熟悉，所幸鶴森老師給予協助與幫忙。並且在跟隨老師的博士班四年裡，學到許多研究與行政上的事務，對於未來的發展相當有用。再者為黃滄海老師，謝謝你在九年前認識的初期即提供一份工讀的機會給我，讓學生能專心於課業與球隊的訓練上。也教導運動科學相關專業知識，使得本人能進入成大體健休所就讀，並且花了六年時間一路帶領我完成碩士、博士學位。如今能完成這本博士學位論文，心中的感謝不可言喻。

心裡由衷的感謝成大體健休所碩士班的梁詠喻與林庭瑜同學，在實驗進行的半年裡給予本人相當多的助力，也謝謝蘇亦秀與蔡欣蓉兩位學妹於數據分析的幫忙。

另外，在此謝謝許多人給予本人於實驗進行、數據分析、專業知識與論文修改的幫助：感謝國立成功大學生化所的張明熙教授與許育祥博士於動物實驗進行時所需的幫助；感謝國立成功大學物理治療學系的徐阿田教授與鄭宏彥同學提供雙軸材料測試系統的儀器與專業的操作；感謝國立台灣大學藥理學研究所的符文美教授、林子閎博士後研究員與馬昀研究助理，在微電腦斷層掃描的測量與分析給予極大的幫助；感謝國立成功大學體育健康與休閒研究所的邱宏達與鄭匡佑副教授提供地面反作用力的程式計算；感謝林正常、楊榮森與謝伸裕三位教授在研究計畫與學位口試時給予豐富的專業知識與論文修改。

最後，感謝家人這一路上的支持，從未給我任何的壓力，讓我在這 28 年都能做自己想做的事。吉兒，感謝你這六年研究生涯的陪伴，使我更有動力在學術上的闖蕩。

目 次

口試委員與系主任簽字之論文通過簽名表.....	i
論文授權書.....	ii
中文摘要.....	iii
英文摘要.....	iv
謝誌.....	v
目 次.....	vi
表 次.....	viii
圖 次.....	ix
第壹章 緒論.....	1
第一節 問題背景.....	1
第二節 研究目的.....	3
第三節 名詞操作性定義.....	3
第四節 研究限制.....	3
第五節 研究重要性.....	4
第貳章 文獻探討.....	5
第一節 骨再塑的機制.....	5
第二節 機械性負荷與骨再塑.....	7
第三節 落地運動對骨骼的影響之動物實驗評析.....	13
第四節 總結.....	16
第參章 研究方法.....	17
第一節 實驗動物.....	17
第二節 實驗設計.....	17
第三節 骨骼樣本之收集與製備.....	19

第四節 分析方法.....	19
第五節 統計分析.....	26
第四章 結果.....	27
第一節 訓練前與訓練後落地訓練組與對照組的體重比較.....	27
第二節 身體與骨骼的長度.....	27
第三節 八週落地的地面反作用力變化.....	29
第四節 骨骼斷面參數.....	31
第五節 海綿骨的骨生成與骨吸收參數.....	36
第六節 骨密度與海綿骨結構.....	39
第七節 骨骼生物力學特性.....	44
第五章 討論.....	50
第一節 落地訓練的動物模型：實驗控制的適當性.....	50
第二節 不同期間的落地衝擊對皮質骨的影響.....	52
第三節 不同期間的落地衝擊對海綿骨的影響.....	54
第四節 綜合討論.....	55
第五節 結論與建議.....	60
引用文獻.....	61
附錄.....	67
附錄一 縮寫表.....	67
附錄二 破骨細胞的染色步驟與計算分析.....	69
附錄三 骨骼鹼性磷酸酶的染色步驟與計算分析.....	71
附錄四 落地訓練的過程圖示.....	73
附錄五 動物實驗同意書.....	74
個人小傳.....	80

表 次

表 1 落地運動對動物骨骼影響的文獻整理.....	15
表 2 實驗設計摘要表.....	18
表 3 訓練前後各時間點落地訓練組與對照組的體重比較.....	28
表 4 身體與骨骼長度.....	28
表 5 股骨斷面參數.....	32
表 6 脛骨斷面參數.....	33
表 7 股骨海綿骨結構.....	42
表 8 脛骨海綿骨結構.....	43
表 9 股骨生物力學特性 (結構層次).....	45
表 10 股骨生物力學特性 (組織層次).....	46
表 11 脛骨生物力學特性 (結構層次).....	47
表 12 脛骨生物力學特性 (組織層次).....	48

圖 次

圖 1 骨骼承受外力產生形變而引發機械性負荷造成系列細胞反應示意圖.....	9
圖 2 骨骼接受機械性負荷至活化造骨細胞作用的流程圖.....	10
圖 3 微型電腦斷層掃描器.....	20
圖 4 雙軸材料測試系統.....	21
圖 5 自製之測力板裝置.....	23
圖 6 落地位置標記示意圖.....	24
圖 7 地面反作用力計算方程式.....	25
圖 8 八週落地的地面反作用力變化.....	30
圖 9 四個訓練期的落地訓練組與對照組的股骨斷面參數差異百分比.....	34
圖 10 四個訓練期的落地訓練組與對照組的脛骨斷面參數差異百分比.....	35
圖 11 海綿骨的鹼性磷酸酶分佈百分比.....	37
圖 12 海綿骨的破骨細胞數目.....	38
圖 13 股骨與脛骨的皮質骨骨密度.....	40
圖 14 股骨與脛骨的海綿骨骨密度.....	41
圖 15 四個訓練期的落地訓練組與對照組的骨骼斷裂負荷值的差異百分比.....	49
圖 16 骨再塑週期和骨骼結構與材料特性的變化示意圖.....	57
圖 17 股骨與脛骨的皮質骨對落地訓練產生的 J 型反應.....	58
圖 18 股骨與脛骨的海綿骨對落地訓練產生的 J 型反應.....	59

第壹章 緒論

第一節 問題背景

骨質疏鬆症 (osteoporosis) 為已開發國家常見的慢性病之一，其造成嚴重之處在於患者因骨流失而缺乏骨量與骨強度，進而無法承受突如其來的外力衝擊，使得個體容易遭遇骨折的意外。另外，骨質疏鬆症患者常見於中老年人，此時期的生理修復機制緩慢，因而，骨折後常造成行動受限、長期臥床，致使諸多併發症出現，嚴重影響患者及家屬的生命及生活品質，同時造成社會的醫療成本提高，進而波及整體國家財政。

研究證實，運動可以促進骨量與骨強度或減緩骨流失而預防骨質疏鬆症與骨折的發生 (Turner, 2006)。在生理上，運動對骨骼產生影響之效應可分為兩種，分別為全身性效應與局部性效應。前者是指運動時引起體內激素的改變，像是生長激素 (growth hormone, GH) (Godfrey, Madgwick, & Whyte, 2003)、副甲狀腺素 (parathyroid hormone, PTH) (Takada, Washino, Hanai, & Iwata, 1998)、維生素D₃ (vitamin D₃) (Iwamoto, Takeda, & Sato, 2005) 等，或運動造成的能量代償引致瘦體素 (leptin) 變化 (Bouassida et al., 2006; Hamrick & Ferrari, 2008)，都會影響全身的骨代謝。後者則指衝擊性或負重式的運動造成骨骼承受局部的物理性刺激，進而影響局部的骨代謝。其中，對骨密度或骨量而言，高衝擊性運動的效果優於低衝擊或有氧運動。另外，若能於青少年時及早運動可提高個體的高峰骨量，儲存足夠的骨本，得以對抗老年時期劇烈的骨流失 (Cooper et al., 1995)。

然而，研究雖已指出運動對骨骼的好處，但礙於人體實驗的諸多限制，許多的骨代謝適應運動刺激的機制與過程均有待研究釐清。因此，科學家透過各種動物模型的建立，企圖了解運動造成的機械性負荷如何對骨骼組織產生影響。常見的模型有跑步機運動、攀爬階梯與跳躍。依實用性與簡化性而言，跳躍運動模型可貼近人體運動的模式，也較適合用來研究高衝擊運動所產生之機械性負荷對骨骼的影響。另外，跳躍運動過程中，其動作組成可分成起跳期 (taking off) 與落地期 (landing)，以其所產生的地面反作用力於骨骼而論，落地動作有較高的地面反作用力 (Kato et al., 2006)，這對局部骨組織

應可產生較高於起跳動作的機械性負荷。

落地運動產生的高衝擊看似可對骨骼造成足夠的效果，但目前探討落地運動對骨骼影響的研究並不多，結果也相當不一致，因而證據有限。以下將依年代分別描述有關落地訓練與骨骼的研究：

Judex 與 Zemicke 以公雞為研究對象，使用的訓練強度是 50 至 60 公分之高度，每天進行 200 次的落地，為期三週，其訓練週期為連續訓練三天休息一天。此研究以形變率 (strain rate) 作為骨骼承受的負荷量值，結果顯示，公雞落地時的跗蹠骨形變率高於走路時 7.4 倍。另外，透過動態組織型態學分析顯示，皮質骨的內膜與外膜的骨生成率 (bone formation rate) 經落地訓練後顯著增加。此研究缺乏骨強度的分析，僅得知骨代謝率，並無法證實訓練是否有增加骨強度 (Judex & Zernicke, 2000b)。

Welch 等人則採用 7 週雌大鼠為對象，以 30 公分與 60 公分的訓練高度，進行每天 10 次的落地、每次休息 10 秒鐘、每週五天、為期 8 週的訓練期。結果顯示：訓練後，大鼠的尺骨與橈骨之骨強度增加，股骨則無呈現相同效果 (Welch, Weaver, & Turner, 2004)，上述結果的原因，其作者認為可能是落地時前後肢承受的衝擊力不同，而造成承受作用力較大的前肢具有效果。以 Welch 為首的研究團隊在 2008 年時再次發表一篇以落地運動配合鈣增補的研究，相同運動計畫的結果顯示，經運動訓練後的尺骨之生物力學強度明顯增加 (Welch, Turner, Devareddy, Arjmandi, & Weaver, 2008)。

Lin 等人先前以 40 公分的落地高度，進行每天 10 及 30 次的落地訓練，每次間隔 10 秒鐘以上、共進行 5 天的運動介入。結果顯示，訓練可提升大鼠的尺骨之骨生成率與骨強度 (Lin et al., 2011)；然而，股骨的斷面幾何參數與骨強度卻在訓練後出現降低的情況 (林欣仕、王鶴森、黃滄海，2010)，以上現象可能是由骨骼尺寸與承受的衝擊力不同而造成。

上述所列文獻，均只針對特定時間點進行觀察 (例：1 週、3 週、8 週)，而缺少時間序列之觀察，因此較難了解骨骼適應落地衝擊之過程。此外，依據先前研究顯示，落地訓練對於股骨的材料特性似乎會隨著介入時間的長度而有所變化 (Welch et al., 2004; 林欣仕等，2010)。但由於上述兩個研究所採用的大鼠品系並不相同，可能會有適

應上的差別，因此，有待進一步以同一品系之實驗動物，進行時間序列研究，以證實上述推論。以大鼠而言，一個完整的骨再塑 (bone remodeling) 週期至少需 16 天，其序列大致上為負荷引起的 3 天後，破骨細胞 (osteoclast) 引致的骨吸收作用 (bone resorption) 開始進行，中間經過 4 天的反轉期 (reversal stage)，於第 7 天才開始由造骨細胞 (osteoblast) 進行骨生成作用 (bone formation) (Tran Van, Vignery, & Baron, 1982)。

基於以上所述的之理由，本研究配合骨再塑之週期，設計時間序列觀察落地訓練對骨代謝變化，預期將有助於釐清骨骼適應高衝擊運動的過程。

第二節 研究目的

透過一、二、四與八週的不同長度的落地訓練期，探討其對成長中雌性大鼠骨代謝、結構與密度之影響與適應過程，以期建立完整的落地動物模型。

第三節 名詞操作性定義

落地訓練 (landing training)：本研究以落地訓練的方式模擬高衝擊性運動。所指的落地訓練為實驗者抓取大鼠的背部距地面 40 公分之高度，然後任其以自由落體的方式落下著地 (free fall landing)，此過程稱為一次之落地訓練。

第四節 研究限制

本研究以年輕雌性大鼠為實驗樣本，研究落地訓練對於成長中鼠骨的影響，目的在於觀察骨骼適應高衝擊負荷的過程，唯動物實驗之研究結果未來若欲進一步應用到人類，仍需要多重研究證實，因而本研究所得之結果用以解釋人類進行相同運動之後的骨代謝仍有限制。

第五節 研究重要性

日常生活中的身體活動涵蓋各式各樣的衝擊性動作，許多運動的形式也富含跳躍之動作。跳躍動作之落地的過程中，地面反作用力對局部骨骼所產生之衝擊或機械性負荷可影響骨代謝，本研究透過不同的時間點，以靜態組織型態學、骨密度、斷面幾何參數、骨骼組織生物力學、地面反作用力等測量與分析，進一步了解落地訓練對發展中骨骼之適應效果，以期建立完整的骨骼適應落地衝擊的動物模型，預期可供相關領域研究者參考或採用。

第貳章 文獻探討

本研究為探討高衝擊運動對骨代謝的影響，有關骨骼的細胞功能、骨再塑過程，或經由運動引起的骨代謝變化等相關背景與基礎理論，本章依序作相關背景知識的介紹與文獻的探討。

第一節 骨再塑的機制

一、骨組織的細胞成員

維持骨代謝的正常運作，需依賴破骨細胞與造骨細胞兩者間的相互作用以達成。破骨細胞 (osteoclast) 屬嗜酸性且具有溶蝕的功能，可破壞骨基質並且釋放鈣至血液中，而後便會接續啟動造骨細胞的作用 (Robling, Castillo, & Turner, 2006)。另一方面，造骨細胞又因功能與特性的不同而可分為數種，以下分別描述：

(一) 造骨細胞 (osteoblast)：其功能相反於破骨細胞，主要在製造新骨並合成膠原，且進行礦化作用，以利促進骨骼的結構與功能。此類造骨細胞又可稱為活化之造骨細胞 (Clarke, 2008)。

(二) 骨細胞 (osteocyte)：不同於活化之造骨細胞，骨細胞通常為成熟的造骨細胞，存於骨基質中，透過骨細胞與骨細胞之間的骨小管 (canaliculi) 和胞隙接合體 (gap-junction) 可形成細胞與細胞之間的連繫網絡，可用以傳導機械性負荷引起的機械及生化訊號 (Xiong & O'Brien, 2012)。

(三) 襯裡細胞 (lining cells)：此類細胞通常位於骨組織表層，為造骨細胞的分支，稱為不活化之造骨細胞 (Miller, de Saint-Georges, Bowman, & Jee, 1989)。

二、骨再塑的運作過程

骨代謝是由破骨細胞引致的骨吸收作用與造骨細胞啟動的骨生成作用相互協調而成，其過程總稱為骨再塑 (bone remodeling)，可分成以下四個階段：

(一) 休息期 (rest stage)：此時骨骼處於停滯的狀態，並未有任何的作用。

(二) 骨吸收作用期 (bone resorption stage)：待破骨細胞活化後，骨吸收作用便啟動，開始對骨骼進行破壞、侵蝕。根據研究顯示，大鼠的下顎骨骨外膜與脊椎骨的次級海綿骨

進行骨吸收作用至少需約 2 天的時間 (Baron, Tross, & Vignery, 1984; Tran Van et al., 1982); 人體則約需 2-4 週的時間 (Clarke, 2008; Robling et al., 2006); 另外, 若此階段的代謝程度高過骨生成, 便會造成骨流失現象。

(三) 反轉期 (reversal stage): 骨吸收作用串聯至骨生成作用的過程會有重疊期, 可稱之為反轉期。此時骨吸收作用開始下降, 相對的, 骨生成作用則開始走向高峰。不同於骨吸收與骨生成作用期, 反轉期同時涵蓋兩種作用發生, 此反轉期的長短通常被認為是骨代謝速率的快慢。例如大鼠的下顎骨骨外膜約需 4 天, 而次級海綿骨只需約 2 天 (Baron et al., 1984; Tran Van et al., 1982)。

(四) 骨生成作用期 (bone formation stage): 破骨細胞作用啟動時會傳遞分子訊息而活化造骨細胞以進行骨生成作用, 此階段包含由造骨細胞分泌新的膠原與礦化作用, 因此需要較多的時間, 證據顯示: 大鼠大概約需 10-36 天 (Baron et al., 1984; Tran Van et al., 1982); 人體則需約 4-6 月的時間 (Clarke, 2008; Robling et al., 2006)。因此, 骨生成作用若高於骨吸收作用, 骨量將會提昇, 並可能促進骨強度。

三、運動與骨代謝

運動對骨骼具有良好的效果, 其作用機制相當多元。一般而言, 運動促進骨代謝主要經由兩種途徑, 一為全身性效應 (systemic effects), 另一為局部性效應 (local effects), 以下分別描述:

(一) 全身性效應: 全身性效應意即為維持體內血中鈣離子的恆定, 各種賀爾蒙會與骨骼細胞成員相互調解, 進而調控骨代謝作用。而這些賀爾蒙則包含以下所列:

1. 副甲狀腺素 (parathyroid hormone, PTH): 亦可稱為升血鈣素, 是鈣離子平衡的激素之一, 當血中鈣離子濃度下降時便會分泌。主要是經由刺激破骨細胞進行骨吸收作用, 讓骨基質降解而釋放鈣至血中, 以利鈣平衡。研究證實, 運動可降低血中 PTH, 減少骨吸收作用, 進而促進骨生成與礦化作用, 增進骨骼健康 (Takada et al., 1998)。
2. 維生素D3: 鈣的代謝明顯受到維生素D3 的影響, 簡單而言, 若體內有較高的維生素D3 含量, 將有利於鈣的吸收。動物實驗指出, 運動訓練可提升大鼠血中的維

生素D3，而有益骨生成 (Iwamoto et al., 2005)。

3. 生長激素 (growth hormone, GH)：不同於上述以維持鈣平衡的激素，GH是經由腦內垂體所分泌，可進一步引發骨骼及肝臟的類胰島素生長因子 1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 生成，而 IGF-1 在骨組織可活化造骨細胞，促進骨生成作用而達成骨再塑的淨平衡 (Godfrey et al., 2003)，而運動則可增加生長激素的分泌，因而促進上列所述的代謝過程。

4. 瘦體素 (leptin)：瘦體素是由脂肪組織所合成的賀爾蒙，有關瘦體素與骨骼之間的關係，已有研究指出瘦體素會抑制骨生成 (Ducy et al., 2000)。此外，先前的研究顯示單次運動的代謝量高過 800 卡，或長期的運動訓練都可減低瘦體素含量 (Bouassida et al., 2006)，因而，運動可能透過減低瘦體素的途徑以對骨骼健康產生效益 (Guadalupe-Grau et al., 2009b)。

(二) 局部性效應：局部性是指經由具衝擊性或負重的運動造成骨骼局部承受機械性負荷，進而影響該處的骨代謝。根據文獻顯示，如欲增加局部骨量或骨密度，具衝擊性的運動相較於低衝擊性或有氧運動有更好的效果 (Guadalupe-Grau, Fuentes, Guerra, & Calbet, 2009a)。然而，此效應的機制仍有待釐清，許多研究者試圖透過相關的動物模型，以探討機械性負荷如何影響骨代謝的相關機制。

第二節 機械性負荷與骨再塑

一、機械性負荷引致骨細胞作用活化的機轉

運動過程中引致的地面反作用力或肌肉收縮會對骨骼產生物理性刺激，通常稱為機械性負荷 (mechanical loading)。此機械性負荷已證實可影響骨代謝，但相關機制的研究，多來自於離體 (*in vitro*) 研究。研究證據顯示，造骨細胞與骨細胞均與機械性負荷而引發的骨生成作用有關 (Ajubi, Klein-Nulend, Alblas, Burger, & Nijweide, 1999; Chen et al., 2000)。此外，機械性負荷在活體中，可能是經由液體流動而影響骨細胞所衍生的一系列反應 (Knothe Tate, Knothe, & Niederer, 1998)。如同針對組織間液 (interstitial fluid

flow) 流動理論所整理的圖 1 所示，當骨骼承受機械性負荷時，造成骨組織形變，此形變會使得骨組織產生不同的壓力空間，組織間液體因而會從壓力側朝向張力側流動，流動過程中對細胞表面所產生的剪應力 (shear stress) 將會進一步轉變成細胞內一連串的生化反應。如圖 2 所示，因運動或外力所產生的機械性負荷最終經由機械連結 (mechanocoupling)、生化連結 (biochemical coupling)、生化訊息傳遞 (transmission of biochemical signals)、功能細胞反應 (effector cell response) 四個步驟後 (Duncan & Turner, 1995)，活化造骨細胞以進行骨再塑中的骨生成作用，以利新骨形成與礦化作用。

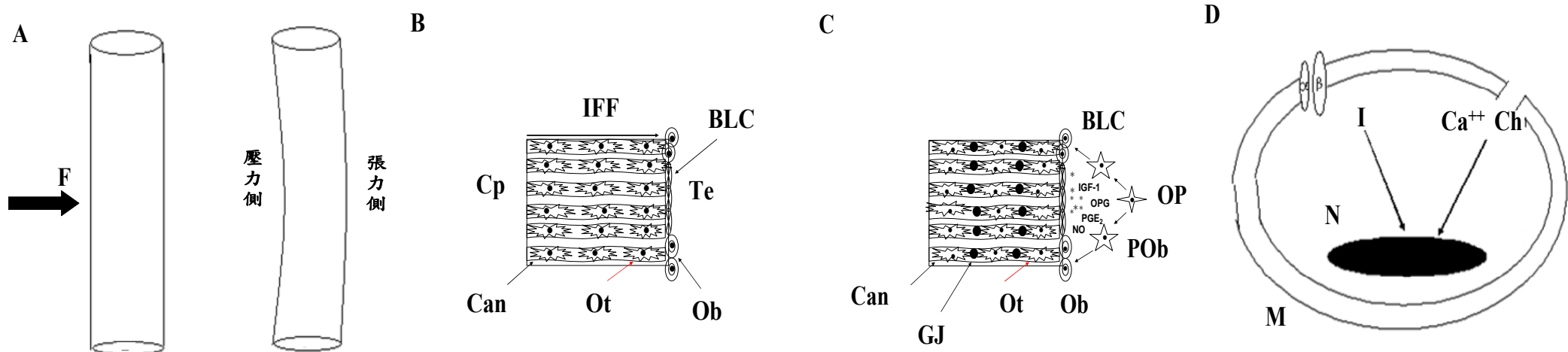


圖 1 骨骼承受外力產生形變而引發機械性負荷造成系列細胞反應示意圖

A：骨骼承受外力後造成的骨組織形變；F 為 force，意指外力。B：骨骼產生形變後組織間液流動刺激骨細胞示意圖；Cp 為 compression，意指壓力側；Te 為 tension，意指張力側；IFF 為 interstitial fluid flow，意指組織間液流動的方向；Ob 為 osteoblast，意指活化之造骨細胞；Ot 為 osteocyte，意指成熟之造骨細胞，稱為骨細胞；BLC 為 bone lining cell，意指不活化之造骨細胞，稱為骨骼襯裡細胞；Can 為 canaliculae，意指骨小管。C：骨細胞接收刺激後將胞內的細胞激素與生長因子，經由細胞間的傳送而刺激造骨細胞的分化的示意圖；OP 為 osteoprogenitor，意指骨先驅細胞；POb 為 preosteoblast，意指造骨細胞先驅；GJ 為 gap junctions，意指胞隙接合體，用來傳送分子訊息。IGF-1 為 insulin-like growth factor-1，即為類胰島素生長因子；PGE₂ 為 prostaglandin2，即為前列腺素 2；OPG 為 osteoprotegrins，意指破骨細胞生長抑制因子；NO 為 nitrogen monoxide，即為一氧化氮。D：由兩種受納器經過生化連結後將訊息傳到細胞內示意圖；M 為 cell membrane，意指細胞膜；N 為 cell nucleus，意指細胞核；I 為 integrins，此為一種整合蛋白，為生化連結通道之一；Ca⁺⁺ Ch 為 Ca⁺⁺ channel，此為鈣離子通道，為生化連結通道之一。

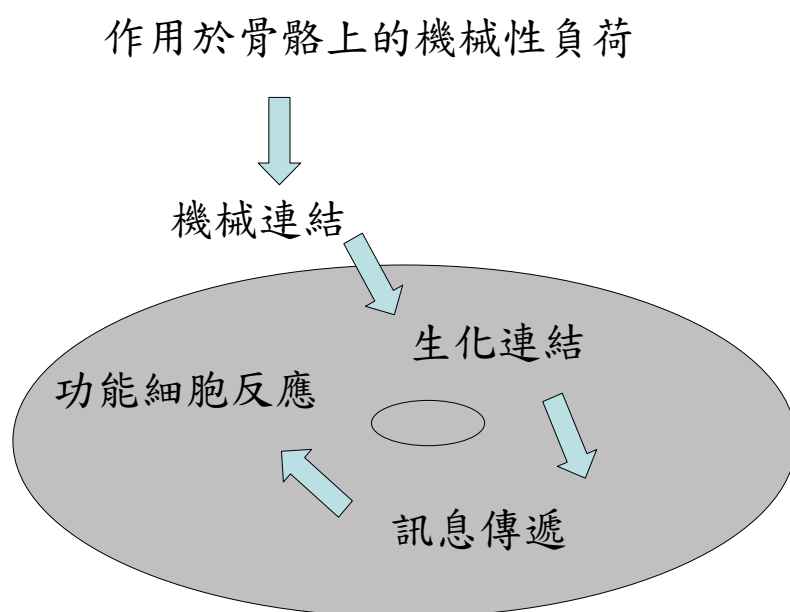


圖 2 骨骼接受機械性負荷至活化造骨細胞作用的流程圖

上述之組織液體流動來自於骨組織的形變，依形變的特性又可分為形變次數 (strain cycle)、形變率 (strain rate)、動靜態形變 (dynamic or static strain)。而刺激骨代謝的最重要生物力學因素之一，目前多數研究認為是形變率 (Burr, Robling, & Turner, 2002; Turner, 1998)，也就是單位時間的形變量。以運動場或日常生活時而言，通常具衝擊性的運動或負重式運動（例：籃球衝搶與排球殺球後落地時下肢衝擊），較易使局部骨骼產生較高的形變率。

二、動物模型

上述的機械性負荷影響細胞的機制多僅限於離體研究，為了更瞭解活體的機械性負荷對骨代謝的知識，科學家以動物實驗為例發展出許多模型，各種模型有其優劣，以下進行探討：

(一) 跑步機 (treadmill running)

跑步機運動模型已行之有年，此模型的方法是將動物放置於跑步機上，在跑步訓練過程中，動物會因負荷自身體重而對四肢骨產生機械性衝擊。研究證據顯示，此種模型的衝擊力較少：由於量測動物跑步時的地面反作用力有方法上的限制，目前尚未找到相

關文獻呈現動物跑步時的地面反作用力。然而，以形變感應器裝置的研究發現，公雞進行跑步時 (1.41-1.84 m/s) 的骨形變率，約為走路時的 1.36 倍 (Judex & Zernicke, 2000a)，於 60cm 之高度落地時則約為走路時的 7 倍 (Judex & Zernicke, 2000b)。此外，若以人體試驗測量的地面反作用力而言，由 1.1 m/s 的走路速度測得的地面反作用力為 1.2 倍體重，以 2.2 m/s 的跑步速度則為 2.3 倍體重，反而以 30.5 cm 的高度進行落地就達 3.5 倍體重 (Janz, Rao, Baumann, & Schultz, 2003)。

另外，跑步訓練通常會對骨代謝有全身性的效應進而影響體內賀爾蒙，可能與機械性負荷對於骨骼的效果混淆。此外，部份研究者的跑步機設有電擊，動物可能在被逼迫的情況下進行運動，其所分泌的壓力賀爾蒙可能也會影響到骨骼，因而跑步機模型的研究結果並不一致 (Huang et al., 2008b; Huang et al., 2003; Huang, Yang, Hsieh, & Liu, 2002; Judex & Zernicke, 2000a; Notomi et al., 2000)。

(二) 攀爬 (tower climbing)

此模型主要是將動物的食用水放置於特定的高度，讓動物為了取得水源而往上攀爬，形成一種類似阻力訓練的運動。許多研究證實，此種模型的機械性負荷可以促進大鼠的骨再塑，進而增加骨量和骨強度，此正面效果無論在成長中 (Notomi et al., 2001)、缺乏雄性素 (Notomi et al., 2002)、缺乏雌激素 (Notomi, Okimoto, Okazaki, Nakamura, & Suzuki, 2003) 等不同條件的大鼠都已被證實。為了避免逼迫動物運動而影響壓力賀爾蒙等干擾因子，因而有研究者利用此種自主性的運動模型來進行 (Rosa et al., 2010)。然而，此模型雖然可使動物憑自由意志進行運動，但此類的運動在於肌肉收縮並非因高衝擊引起，而肌肉收縮影響骨骼的負荷難以評估，同時因屬自主運動，因此運動量也不易評估。此外，動物經由 21 天的攀爬運動訓練之後，相較於沒有運動訓練的對照組，獲得較少的體重 (Rosa et al., 2010)。體重的改變將影響體內賀爾蒙，因此，攀爬運動可能同時對骨代謝具有全身性與局部性效應，亦會混淆機械性負荷給予骨骼的作用。

(三) 起跳 (taking off)

進行此運動模式訓練時，動物首先會站立於底下備有電刺激的平台，運動介入初期必須使用電刺激讓動物產生跳躍動作，並於約 40cm 高處放置另一平台可供動物躍上抓

握之用，因此，運動過程中，不會有起跳之後的落地動作之產生。由於前腳在躍上平台時的抓握動作有類似阻力運動的效果，因此，此類模型以探討後腿的部位為主，所引起的機械性負荷主要在起跳期時後腿骨骼所造成的形變，其與落地模型的差別在於落地時會產生較高的地面反作用力，而較高的地面反作用力可能會使骨組織有較高的形變率 (Edwards, Ward, Meardon, & Derrick, 2009)。雖然起跳期的作用力較落地期小，但以起跳模型介入造成的骨骼效應卻相當明確與一致。無論是運動介入時間的長短 (8 週或 1 週)、生理條件的不同 (健康個體或雌激素缺乏)、運動計畫相異 (例如：頻率、次數、組數)，都可使大鼠獲得骨骼的正面效應 (Honda, Sogo, Nagasawa, Shimizu, & Umemura, 2003; Honda, Umemura, & Nagasawa, 2001; Nagasawa, Honda, Sogo, & Umemura, 2008; Umemura et al., 1995; Umemura, Ishiko, Yamauchi, Kurono, & Mashiko, 1997; Umemura, Nagasawa, Honda, & Singh, 2008)。然而，此模型的缺點在於運動初期實驗動物必須承受電刺激所產生的生理或心理壓力，對骨代謝可能產生額外影響。

(四) 落地 (landing)

落地模型是以自由落體的方式讓動物在一定的高度被釋放而落地，此時雙腿甚至四肢均必須承受數倍體重的地面反作用力，進而造成機械性負荷刺激骨代謝。落地時的骨骼產生相當大且快的形變率，研究顯示，公雞於 60cm 之高度落地時的形變率高於走路時的 7 倍 (Judex & Zernicke, 2000b)。另外，先前的研究發現，從 40cm 的高度讓大鼠落地會造成後腿負荷 10-15 倍的地面反作用力 (林欣仕等，2010)。這種模式的優點在於貼近日常生活之人體活動，例如籃球之衝搶籃板時的落地，抑或排球之跳躍殺球後的落地都是此類動作模式的呈現。落地模型對骨骼的正面效應雖顯示於各項研究 (Judex & Zernicke, 2000b; Lin et al., 2011a; Welch et al., 2008; Welch et al., 2004)，但亦有負面效應的研究結果 (林欣仕等，2010)，因而，高於起跳模型的形變率並未帶來研究結果的一致性。

三、落地模型的優勢

(一) 便利性

由於落地會引發骨骼相對高的形變率，而形變率對骨生成又是重要的指標，因而只

需每天 10-30 次的落地、耗時數分鐘之內的運動介入即可得到效果。如此，操作者只需用手將動物提高至一定高度，而後將動物釋放任其以自由落體的方式著地，對於實驗者而言是相當便利的一種操作方法。相較於起跳模式，落地運動可產生更高的地面反作用力，又可避免因電刺激對動物所產生的壓力。

(二) 精確性

由於大鼠落地時是以四肢同時著地以支撐身體，落地時四肢體骨組織所承受的地面反作用力隨高度而有改變 (Welch et al., 2004)，若高度固定，此模式對大鼠四肢骨的負荷應可精確控制。因此，此種模型除了個體的落地技巧不同而可能使衝擊力的分佈不同之外，在固定高度下的落地，對個體下肢所產生的地面反作用力變異性相對低。

(三) 應用性

動物運動模型之建立與創造，其目的不外乎能夠應用於人類實際的生活上，落地包含肌肉收縮與地面反作用力之衝擊對骨組織所產生的刺激，實際模擬生活中的高衝擊性運動，或許可與籃球的籃板衝搶、排球攻擊等等之落地動作相類比。

第三節 落地運動對骨骼的影響之動物實驗評析

從本研究所搜尋的文獻顯示，使用落地動物模型之研究數量並不多，如表 1 所呈現，至今僅有 5 篇（其中包括本人一篇會議報告之研究成果）。以下依動物種類、運動強度、運動頻率、運動效果分別探討：

一、動物種類

在五篇的落地運動與骨骼效果的相關研究中，除了一篇是以 12 週大的白來亨雄雞 (white Leghorn rooster) 作為實驗動物 (Judex & Zernicke, 2000b) 以外，其餘皆使用 6.5 或 7 週大的雌性大鼠 (Lin et al., 2011; Welch et al., 2008; Welch et al., 2004; 林欣任等, 2010)。就年齡而言，這些研究主要著重於落地訓練對於成長期的骨骼效應。然而，就動物種類方面，各研究者則有不同的想法。以使用公雞為例，主要的特色在於模擬人類落地時的雙肢型態，但公雞的骨骼與生理之構造，相較於大鼠與人類骨組織而言，則相

似度較低。因此，使用兩種動物的考量各有不同，但亦各有優劣。

二、運動強度

落地的運動強度主要受落下高度的影響，高度越高骨骼必須承受的負荷也越高，因而此類研究可在高度設計上作改變以調整運動強度。從文獻顯示，Judex與Zernicke使用的運動強度是50至60公分之高度 (Judex & Zernicke, 2000b)，不同於Welch等人的30公分、45公分、60公分 (Welch et al., 2008; Welch et al., 2004)，也與Lin等人使用的40公分不相同 (Lin et al., 2011; 林欣仕等, 2010)。在另一方面，若以生物力學儀器測量運動強度，也呈現許多差異的存在，例如Judex與Zernicke並未使用測力板收集地面反作用力，而是透過手術的方式加裝形變裝置感應器於骨骼，進而獲取骨骼形變率的資料。根據其結果顯示，落地時的跖蹠骨形變率高於走路7.4倍。至於Welch等人與Lin等人雖然都使用雌性大鼠為研究對象，亦均使用測力板為評量工具，但地面反作用力的結果卻呈現相反。

Welch研究的動物落地時的肢體所承受的地面反作用力由前腳的13-17倍體重至後腳的4-7倍體重 (Welch et al., 2004)，明顯不同於本實驗室先前研究的前腳4-5倍體重至後腳的10-15倍 (Lin et al., 2011; 林欣仕等, 2010)，造成這樣的差異應是標準化 (normalized) 的方式不同。在地面反作用力的數據標準化過程中，兩篇研究者都是用地面反作用力的峰值除以體重，不同之處在於Welch是以前腳的地面反作用力除以前半身的體重，後腳的地面反作用力除以後半身的體重，本研究則是皆除以全身的體重，加上Wistar品種的大鼠全身體重分佈 (後半身高於前半身)，因而造成先前的測量結果後腳有較高的地面反作用力。從以上的文獻，只能確定各項研究所設計的高度均能造成足夠的衝擊力作用於骨骼，但相互間在比較仍有困難之處。

三、訓練頻率

Judex與Zernicke每天讓動物進行200次的落地，連續訓練三天休息一天，為期三週 (Judex & Zernicke, 2000b)。Welch則使動物進行每天10次的落地、每次休息10秒鐘、每週五天、為期8週 (Welch et al., 2008; Welch et al., 2004)。Lin等人的研究則與Welch相同，差別在於Lin的研究只有為期一週，屬短期研究 (Lin et al., 2011; 林欣仕等, 2010)。

因此，除了與Judex和Zernicke的運動頻率不同之外，其餘大致相同。

上述研究皆以單一週期為主，雖包含短期的一週、中期的三週及長期的八週，卻並未有研究進行時間序列的觀察，因此，有必要透過同一研究，以週齡、品系及各方面實驗條件控制一致的時間序列研究，進一步呈現骨組織適應落地運動之過程。

表 1 落地運動對動物骨骼影響的文獻整理

作者 (年份)	實驗參與者	動物週齡 (週齡)	實驗組運動設計	結果
Judex & Zernicke (2000b)	雄雞 (rooster) 控制組 (n=10) 運動組 (n=10)	12	自 50-60 公分處躍 下落地動作，50~ 200 次/天，7 天/ 週，3 週	運動組的骨膜及內皮 質骨區的骨生成率顯 著高於控制組
Welch et al. (2004)	Fischer 344 雌鼠 30 公分運動組 (n=10) 60 公分運動組 (n=10) 控制組 (n=10)	6.5	自 30 及 60 公分處 躍下落地，10 次/ 天，5 天/週，8 週	運動組尺骨與橈骨的 骨強度均顯著優於控 制組；二組運動組則無 顯著差異
Welch et al. (2008)	Fischer 344 雌鼠 運動組 (n=10) 運動+鈣增補組 (n=10) 控制組 (n=10) 控制+鈣增補組 (n=10)	6.5	自 45 公分處躍下 落地，10 次/天，5 天/週，8 週	運動組尺骨的海綿骨 骨密度、幾何參數與骨 強度均顯著優於控制 組，鈣增補則無額外的 效果
Lin et al. (2011)	Wistar 雌鼠 10 次運動組 (n=11) 30 次運動組 (n=11) 控制組 (n=10)	7	自 40 公分處躍下 落地，10 次或 30 次/天，5 天/週， 1 週	運動組尺骨的礦化 率、礦化形成率、骨生 成率與骨強度均顯著 優於控制組；二組運動 組則無顯著差異
林欣仕等 (2010)	Wistar 雌鼠 10 次運動組 (n=11) 30 次運動組 (n=11) 控制組 (n=10)	7	自 40 公分處躍下 落地，10 次或 30 次/天，5 天/週， 1 週	運動組股骨的幾何參 數與骨強度均顯著低 於控制組；二組運動組 則無顯著差異

四、運動效果

Judex與Zernicke透過動態組織型態學分析顯示，骨內外膜的骨生成率 (bone formation rate) 經落地訓練達顯著增加。此研究主要強調高形變率與骨代謝率之間的關係，但缺乏骨強度的分析，並無法證實訓練是否對骨骼材料特性有所影響 (Judex & Zernicke, 2000b)。Welch的研究則顯示，訓練後大鼠的尺骨與橈骨的骨強度均顯著增加，但效果僅限於前腳，後腳的股骨則未具有差異水準 (Welch et al., 2008; Welch et al., 2004)。Lin等人的研究則顯示 5 天的短期訓練後，可增進尺骨之骨生成率與骨強度 (Lin et al., 2011)，然而，卻會造成股骨的骨骼幾何參數與骨強度都低於控制組 (林欣仕等，2010)。相較於實驗大鼠的前腳而言，後腳的落地模式較能模擬人類落地動作，但過去的研究無法呈現較系統性且結論性的結果，有待規劃更完整之研究以釐清。

第四節 總結

以上所列有關落地訓練的文獻，各項研究均僅就單一時間點進行分析 (例：1 週、3 週、8 週)，缺少時間序列之觀察以了解骨骼適應落地衝擊之過程。除了Lin等人的研究之外，上述研究均以三週以上之訓練期以觀察骨組織的反應，但依據Lin等人之 5 天的短期訓練結果 (Lin et al., 2011; 林欣仕等，2010)，加上先前的研究指出大鼠骨組織一個完整的骨再塑週期約需為 16 天 (Tran Van et al., 1982)。因此，本研究將於 8 週之落地訓練期間，設計時間序列觀察骨代謝的變化，期能有助於釐清落地訓練與骨骼之間的關係。

第參章 研究方法

第一節 實驗動物

本實驗以 96 隻年輕雌性大鼠為實驗樣本，品系名稱為 Wistar，由國立成功大學實驗動物中心繁殖組購得，並飼養在該中心內。選擇此品種在於其為齧齒性動物，具有和人類相似的骨骼系統，可模擬人類骨骼適應運動的骨代謝。本研究設計之落地運動於動物週齡滿 7 週後開始進行。動物中心飼養之環境溫度為 $22 \pm 1^{\circ} \text{C}$ ，光照與黑暗各為 12 小時，飲水及動物飼料 (Rodent Laboratory Chow 5001, Purina. Co., USA) 均採自由取食的方式供應實驗動物。實驗期會進行體重測量以觀察體重變化情形，並且於實驗期結束後量測身體、脛骨與股骨的長度。動物實驗流程於實驗進行前通過國立成功大學動物實驗委員會審查（核准編號：101166）。

第二節 實驗設計

本實驗依分四個時間點設置落地訓練組與對照組，依序描述如下（表 2）：

一、1 週落地訓練組 (E1 組, n=12)

由實驗者抓取大鼠的背部距落地面 40 公分之高度，然後鬆手任其以自由落體的方式落下著地（如附錄四），此過程稱為 1 次之落地訓練。本組實驗動物每天接受 30 次的落地訓練，次與次之間休息約 10 秒鐘，進行 1 週共 5 天的訓練，並於訓練期完畢後休息 3 天犧牲。

二、2 週落地訓練組 (E2 組, n=12)

訓練方式、次數與頻率如 E1 組所述，唯訓練期是進行 2 週共 10 天的時間，並於訓練期完畢後休息 3 天進行犧牲，簡稱 E2 組。

三、4 週落地訓練組 (E4 組, n=12)

訓練方式、次數與頻率如 E1 組所述，唯訓練期是進行 4 週共 20 天的時間，並於

訓練期完畢後休息 3 天進行犧牲，簡稱 E4 組。

四、8 週落地訓練組 (E8 組, n=12)

訓練方式、次數與頻率如 E1 組所述，唯訓練期是進行 8 週共 40 天的時間，並於訓練期完畢後休息 3 天進行犧牲，簡稱 E8 組。

五、1 週對照組 (C1 組, n=12)

由實驗者抓取大鼠的背部距地面 40 公分之高度，但不使動物產生落地之動作，用以對照 E1 組為主，並與 E1 相同時間進行犧牲。

六、2 週對照組 (C2 組, n=12)

實驗處理如 C1 組所述，用以對照 E2 組為主，並與 E2 相同時間進行犧牲，簡稱 C2 組。

七、4 週對照組 (C4 組, n=12)

實驗處理如 C1 組所述，用以對照 E4 組為主，並與 E4 相同時間進行犧牲，簡稱 C4 組。

八、8 週對照組 (C8 組, n=12)

實驗處理如 C1 組所述，用以對照 E8 組為主，並與 E8 相同時間進行犧牲，簡稱 C8 組。

本研究所設置的 40 公分之高度是依據先前落地訓練的研究 (Lin et al., 2011) 所設定，並且依先前的實驗觀察，此高度並不會造成動物翻身反射與死亡。

表 2 實驗設計摘要表

	E1	E2	E4	E8	C1	C2	C4	C8
n	12	12	12	12	12	12	12	12
落地訓練	+	+	+	+	-	-	-	-
訓練時間	1 週	2 週	4 週	8 週	1 週	2 週	4 週	8 週

註：+，表示接受落地訓練；-，表示沒有接受落地訓練

第三節 骨骼樣本之收集與製備

所有實驗動物於各時間點之實驗期結束後，以舒泰 50 (Zoletil 50；成分為 zolazepam 與 tiletamine；劑量為每 1 公斤體重施打 1 毫升，Virbac Taiwan Co., Ltd, Taiwan) 進行腹膜下注射麻醉後斷頭 (decapitation) 犧牲，將附著於脛骨與股骨周圍的軟組織去除之後，採集左右的脛骨、股骨，其後續製備流程依不同的分析項目分別描述如下：

一、微型電腦斷層掃描 (μ CT) 的樣本製備：將左脛骨與股骨浸泡於 70% 酒精以固定並保存骨組織，以供之後進行微型電腦斷層掃描之用，所得影像經重組後，可用以進行骨密度與海綿骨結構的分析。

二、生物力學特性測試、斷面參數測量與靜態組織型態學的樣本製備：將右脛骨與股骨包裹於沾濕 PBS 溶液 (phosphate buffer solution) 的紗布，再以鋁箔紙包裝後，置於 -20 度 C 冰箱保存，隨後進行生物力學特性分析。待完成生物力學壓斷並完成斷面拍攝後，收集股骨遠端與脛骨近端的樣本並以 4% 福馬林 (formalin) 溶液浸泡 24 小時，固定完成後浸泡 10% 脫鈣液 (ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dehydrate, EDTA) 四週進行組織脫鈣，此後並進行脫水、澄清、石蠟包埋等步驟，以備日後的靜態組織型態學分析。

第四節 分析方法

一、微型電腦斷層掃描 (micro-computed tomography, μ CT)

本研究將樣本送至國立台灣大學醫學院藥理學研究所，以微電腦斷層掃描器 (Micro-CT, Skyscan 1176, Kontich, Belgium) (圖 3) 進行左脛骨與股骨的 3 維結構掃描。

以下為該單位進行分析的標準流程之簡述：藉由 1mm 鋁質濾器在 65 伏特 (kV) 與 350 毫安培 (uA) 的條件下進行掃描，影像搜集的解析度為 $9\mu\text{m}/\text{pixel}$ ，並以影像重建軟體 GPU-based scanner software (NRecon) 執行影像重建。脛骨與股骨的海綿骨骨密度與結構參數之掃描區域分別被定為距離生長板底下 2-3 mm 與 2-4 mm。脛骨與股骨的皮質

骨骨密度則以生長板下 6-7mm 處進行掃描。

上述分析是以兩種軟體 (CTAn) 與 (CTvox) 進行分析與計算。最後可得參數分別有皮質骨與海綿骨的體積骨密度 (volumetric bone mineral density, vBMD, g/cm^3) 與海綿骨結構參數，結構參數分別有骨量比率 (bone volume/ tissue volume, BV/TV, %)、骨小樑厚度 (trabecular thickness, Tb.Th, mm)、骨小樑間距 (trabecular separation, Tb.Sp, mm) 與骨小樑數目 (trabecular number, Tb.N, 1/mm)。



圖 3 微型電腦斷層掃描器

二、骨細胞分析

以切片機自長骨遠端或近端中央取一骨組織縱向切片，共切 2 片，厚度為 $7\mu\text{m}$ 。採用兩種染色法進行組織切片染色，一為抗酒石酸鹽酸性磷酸酶 (tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP) 染色法，以 TRAP 染色劑 (Leukocyte Acid Phosphatase Kit, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 進行，待染色完成後在 10×10 倍的顯微鏡下，計算骨組織中生長板以下 3 公厘範圍內的海綿骨破骨細胞 (osteoclast) 數目，用以代表骨吸收作用的指數；另外，骨生成作用的指數以鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 染

色法進行，以ALP染色劑 (BCIP-NBT Liquid Substrate System, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 進行。待染色完成後，架設高解析度相機 (COOLPIX4500, Nikon, Japan) 於顯微鏡上，以 20×10 倍之鏡頭進行次級海綿骨處的拍攝，並以影像分析軟體 (Image Pro Plus 6.1for Windows (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) 進行分析與計算。以上各項的切片染色流程與數據計算方法參照先前的研究 (Huang, Lin, Chen, & Yang, 2011)，詳細敘述如附錄二和附錄三。

三、骨組織生物力學特性與斷面參數分析

以先前研究所採用的三點壓斷方式進行 (Huang et al., 2008b)。三點壓斷的兩支撐點距離 20mm，第三點則以每秒鐘 1mm 的速度向兩支撐點反方向下壓。以上骨骼材料測驗以國立成功大學物理治療研究所的雙軸材料測試系統 (material testing system) (MTS-858, MTS System, Minneapolis, MN) (圖 4) 進行，實驗過程中的負荷-形變數據 (loading-deformation) 透過 MTS-858 所附之原廠資料擷取軟體收集。



圖 4 雙軸材料測試系統

所有骨組織在壓斷後隨即進行斷面的攝影，架設高解析度相機於 25 倍的顯微鏡上，在固定距離的條件下，將所有組織斷面拍攝下來，隨後再以影像分析系統 Image Pro

Plus 5.1 for Windows (Media Cybernetics, Silver Spring, MD) 測量組織斷面的各項參數，以供進一步計算斷面的轉動慣量矩 (cross-sectional moment of inertial, CSMI) 之用。其計算方法與公式是參考先前的研究 (Huang et al., 2008b; Turner & Burr, 1993)，簡述如下：

$$I = \sum_{i=1}^n (wh^3/12 + whd_i^2)$$

I 是指轉動慣量矩； n 為映像點 (pixel) 的數目， w 和 h 分別為任何一個映像點的高度與寬度； d_i 為橫斷面面積裡的質心到各映像點的距離。此外，透過進一步的計算可得到橫斷面面積 (cross-section area)、皮質骨面積 (cortical bone area)、骨髓腔面積 (bone marrow area)、皮質骨厚度 (cortical bone thickness)、斷面高度與寬度。

在生物力學數據的部份，本研究將所得的數據進行運算後，得到骨骼的降伏點負荷值 (yield load, 單位：N)、斷裂負荷值 (fracture load, 單位：N)、達降伏點所需能量值 (energy to yield load, 單位：mJ)、降伏點後所需能量 (energy to post-yield, 單位：mJ) 及骨骼斷裂所需能量 (energy to fracture load, 單位：mJ)、剛性 (stiffness)。

而再以斷面的轉動慣量矩進行組織的均質化運算後，又將可得出骨骼的降伏點應力 (yield stress, 單位：MPa)、降伏點堅韌度 (yield toughness s, 單位：mJ/mm³)、楊氏係數 (Young's modulus, 單位：GPa)，以上相關的計算公式為：

$$\text{應力值 } (\sigma) \text{ 公式：} \sigma = FLc/4I$$

$$\text{應變值 } (\varepsilon) = 12cd/L^2$$

$$\text{楊氏係數 } (E) \text{ 公式：} E = F/d * L^3/48I$$

其中， c 為質心的距離； F 負荷值； d 是位移； L 是兩個支撐點的距離。有關降伏點負荷與降伏點應力值是以 0.2% 補償法所計算，詳細內容可參考先前研究 (Huang et al., 2008b; Turner & Burr, 1993)。

四、地面反作用力

本研究的地面反作用力之數據與分析的方法是參考先前的研究所進行 (Lin et al., 2011; 林欣仕等, 2010), 以量測後腳 (hindlimb) 為主。以八週訓練組為樣本 (n=10), 進行每週 2 次(每週的第一天與第五天的訓練), 總計 16 個時間點的地面反作用力測量, 重點描述如下:

(一) 測力板系統裝置 (圖 5)

所使用之測力板是由長與寬皆 30cm 的鋁製板組成, 另外含有四顆最大受力值為 50N 之荷重計 (load cell, MDB-10, Transducer Techniques^R, USA)。量測的數據由訊號放大器與資料擷取系統 (包含資料擷取盒 InstruNet-100 與資料擷取卡 InstruNet-230), 樣本蒐集頻率為 100 HZ, 取得後並傳送到個人筆記型電腦。



圖 5 自製之測力板裝置

註：A 為力板；B 為荷重計；C 為資料擷取系統；D 為個人筆記型電腦。

(二) 落地座標

架設攝影機於測力板上方拍取每次的落地位置 (圖 6)，所得圖片經由繪圖軟體標示四肢落地位置，隨後以 Image Pro-Plus5.1 軟體計算而得到座標。

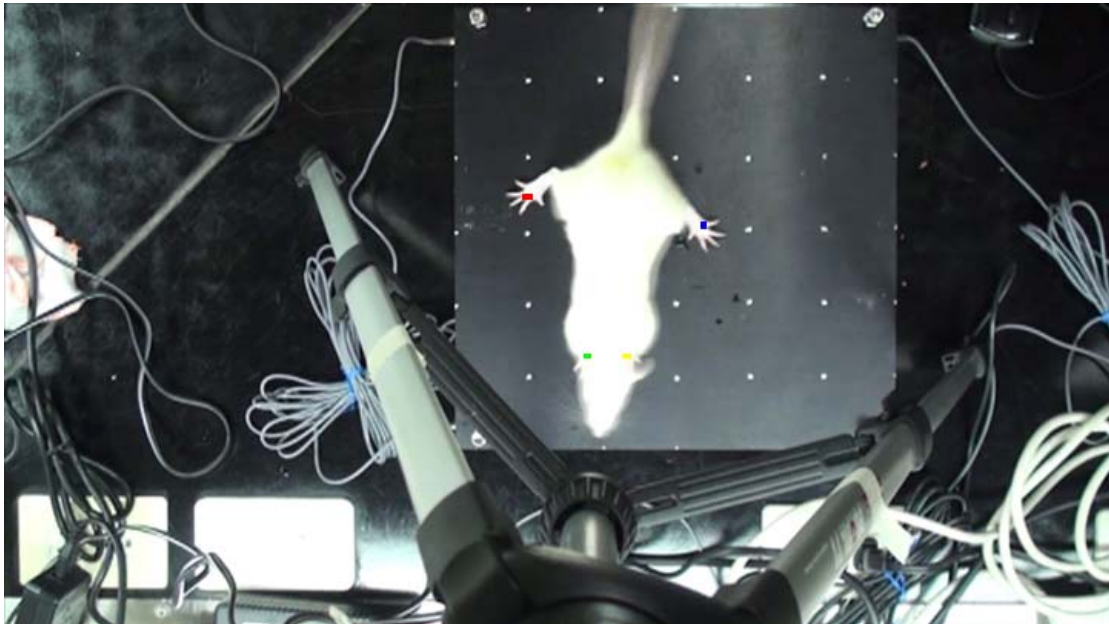
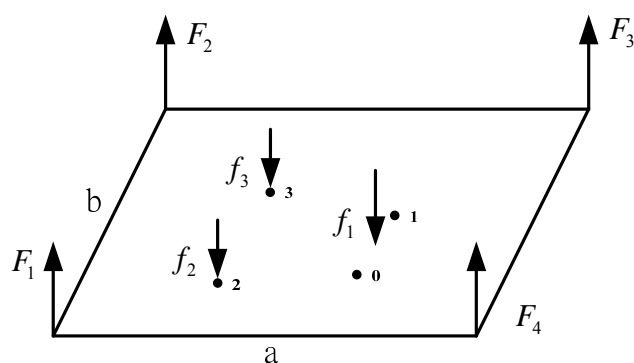


圖 6 落地位置標記示意圖

(三) 地面反作用力的計算公式

大鼠每次落地時均會產生 GRF 峰值，本研究以此峰值的數據與座標，以 Matlab 6.5 進行程式運算而得到地面反作用力之數值。有關地面反作用力的計算公式與基本概念如圖 7 所示：



$$f_1 + f_2 + f_3 = F_1 + F_2 + F_3 + F_4 \quad (1)$$

$$a(F_3 + F_4) = \frac{(a_0 + a_1)}{2} f_1 + a_2 f_2 + a_3 f_3 \quad (2)$$

$$b(F_2 + F_3) = \frac{(b_0 + b_1)}{2} f_1 + b_2 f_2 + b_3 f_3 \quad (3)$$

圖 7 地面反作用力計算方程式

註：F1, F2, F3, F4 為大鼠落地時四顆 load cell 所測得的力量；a, b 為測力板的邊長；f1 為前腳落地時的 GRF 的合力，f2, f3 則分別為後腳的左右邊的 GRF，0,1 為前腳落地位置；2,3 為後腳落地位置。由於以四個 load cell 並無法計算出四隻腳的 GRF，且前腳的 GRF 並非本研究的重點，因此將前腳的反作用力合併為一個力，且假設此合力是作用在前腳落地點連線的中點。

(四)測量地面反作用力的流程與步驟

1. 組裝測力板系統裝置與架設攝影機
2. 測力板平衡校正：由於桌面可能不平而導致測力板的重量無法平均分配，雖然其影響甚小，為求精確，每次組裝完成後都會以平衡儀進行校正。
3. 測力板系統校正：本研究除了進行荷重計校正之外，會再以 500g（換算為 4.9 牛頓）之水瓶放置於測力板中心處，確認每顆荷重計所感應到的負荷值為 1.225 牛頓左右。
4. 大鼠的測力板數據與落地座標的蒐集
5. Matlab 程式運算：此步驟包含測力板原始數據的輸出與整理，也涵蓋落地座標的運算。

第五節 統計分析

本實驗將所得之體重、各項長度值、骨密度、海綿骨的骨生成與骨吸收參數、海綿骨結構參數、生物力學壓斷測試與斷面參數等數值，進行四個時間點的落地訓練組與對照組各自比較，以 SPSS 12.0 中文版套裝軟體，採用獨立樣本 t 檢定，統計顯著水準設為 $\alpha=0.05$ 。

此外，為比較四個時間點的落地訓練組與對照組的差異百分比是否具有差異存在，本研究以單因子變異數分析進行，若 $p < 0.05$ ，以 Scheffe 法進行事後比較。

地面反作用力每週測量 2 次，共計有 16 個時間點，以單因子變異數分析觀察各時間點有無顯著差異，若 $p < 0.05$ ，以 Scheffe 法進行事後比較。

第肆章 結果

本章依分析方法的項目而分成以下所列呈現：一、訓練前與訓練後的落地訓練組與對照組的體重比較；二、身體與骨骼的長度；三、八週落地的地面反作用力變化；四、骨骼斷面參數；五、海綿骨的骨生成與骨吸收參數；六、骨密度與海綿骨結構參數；七、骨骼生物力學特性。

第一節 訓練前與訓練後落地訓練組與對照組的體重比較

本研究共設置四個時間點，並各有落地訓練組與對照組，為了比較各時間點中落地訓練介入是否會影響體重，因而使用獨立樣本 t 檢定進行分析。分析結果如表 3 顯示，無論在訓練前或訓練後，各時間點的落地訓練組與對照組間的體重變化上並無顯著差異。

另外，從數據上可發現，經過 1 週後體重增加的幅度約為 10%，於 2 週後變為 20% 左右，在 4 週與 8 週後分別達約 25% 與 40% 的增加。

第二節 身體與骨骼的長度

為了探討落地訓練是否會影響動物的縱向生長，本研究測量介入後的各時間點兩組之間在身體與骨骼的長度是否具有差異存在。此部分的結果與體重的分析極為相似，顯示落地訓練並未影響縱向生長的發生（表 4）。相同的，從數據的呈現上觀察到，無論是身體的長度或是脛骨與股骨長度，於整個實驗期間裡都有漸進增長的趨勢。

表 3 訓練前後各時間點落地訓練組與對照組的體重比較

	1-Week			2-Week			4-Week			8-Week		
	E1	C1	<i>p</i>	E2	C2	<i>p</i>	E4	C4	<i>p</i>	E8	C8	<i>p</i>
	n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=12	
訓練前 (g)	202.6±2.6	202.8±3.3	.969	207.6±4.3	205.3±4.0	.703	208.0±2.4	207.9±2.7	.973	210.3±2.8	207.8±2.1	.478
訓練後 (g)	223.0±2.9	222.6±4.5	.934	243.8±4.5	244.7±5.3	.902	257.7±3.6	260.0±4.0	.676	290.3±4.2	285.8±7.2	.595

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。

表 4 身體與骨骼長度

	1-Week			2-Week			4-Week			8-Week		
	E1	C1	<i>p</i>	E2	C2	<i>p</i>	E4	C4	<i>p</i>	E8	C8	<i>p</i>
	n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=12	
股骨 (mm)	32.6±0.1	32.5±0.1	.412	33.3±0.2	33.2±0.2	.724	34.6±0.1	34.4±0.1	.260	35.6±0.1	35.4±0.1	.252
脛骨 (mm)	36.6±0.2	36.5±0.1	.689	37.2±0.3	37.2±0.3	.929	38.3±0.1	38.5±0.1	.296	39.4±0.1	39.2±0.1	.151
體長 (cm)	20.3±0.1	20.2±0.1	.738	20.2±0.1	20.2±0.1	.711	21.1±0.1	21.1±0.1	1.000	22.0±0.1	21.8±0.1	.143

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。註：C8 組於脛骨長度的樣本數為 11。

第三節 八週落地的地面反作用力變化

本研究以八週落地訓練組的大鼠進行每週 2 次（分別為每週的第一次與第五次訓練），共 16 次的地面反作用力之測量。共使用 10 隻大鼠，以每隻動物後腳的前五次落地的峰值進行平均，而後將此 16 個時間點的 GRF 進行單因子變異數分析，以觀察此期間的 GRF 變化。統計結果達顯著差異，而經事後比較發現，除了在第一週第一次的 GRF 顯著高於其他時間點之外，其他各時間點之間未達顯著差異。

如圖 8A 所示，第一週第一次的地面反作用力高達約 12 倍體重左右，但經過四天的適應之後，即降為約 8 倍體重的 GRF，最低甚至降到約 6 倍體重左右。整個實驗期維持在約 6 倍與 8 倍體重的 GRF 之間。

此外，若以絕對的地面反作用力值呈現，不除以動物本身的體重，其結果亦與上述結果呈現相同的趨勢（圖 8B）。

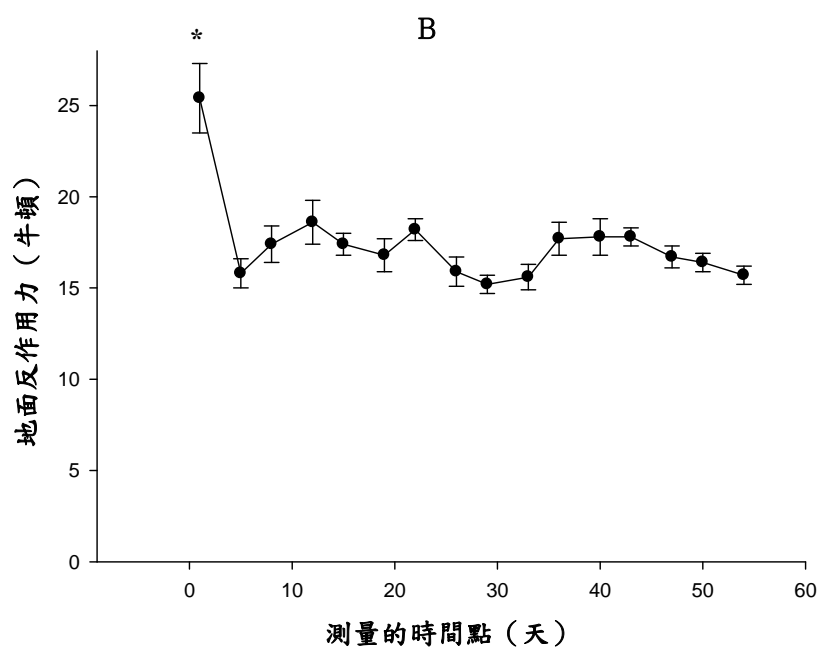
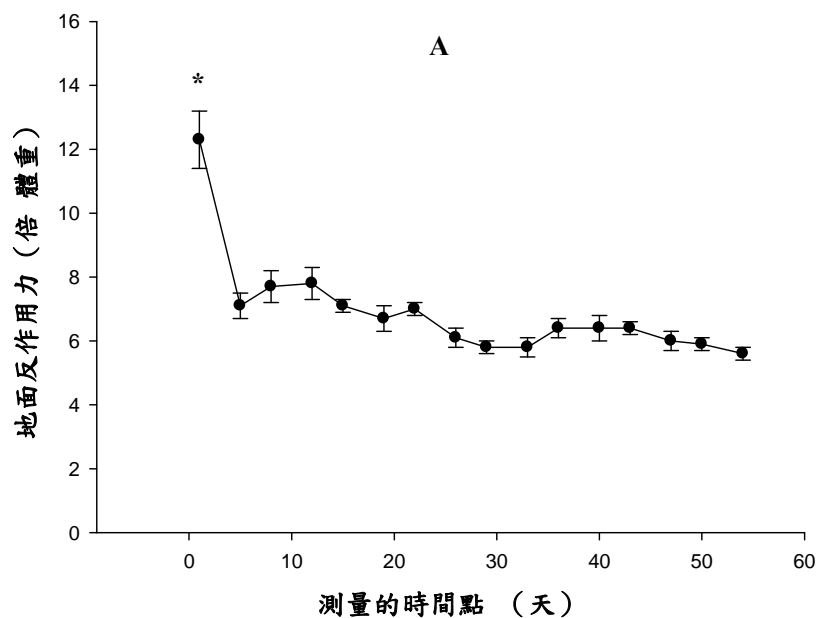


圖 8 八週落地的地面反作用力變化

註：A 圖是呈現相對的地面反作用力，單位為倍體重；B 圖則是呈現絕對的地面反作用力，單位為牛頓。所有數值以平均數 ± 標準誤表示。*表示該點與其他時間點的地面反作用力達顯著差異， $p < .05$ 。

第四節 骨骼斷面參數

本研究共進行股骨與脛骨的斷面參數分析，以下分別描述：

一、股骨

股骨斷面參數的結果顯示如表 5，一週落地訓練組無論在皮質骨面積或是皮質骨厚度皆顯著低於其對照組；相反地，四週落地訓練組則是在這兩項參數顯著高於其對照組。其餘參數除了轉動慣量矩有類似於皮質骨面積與厚度的趨勢外，皆未達顯著水準。

另外，為了比較各時間點落地訓練組與對照組的差異，本研究以 $\frac{\text{落地訓練組}-\text{對照組}}{\text{對照組}} \times 100$ 之公式，進行四個訓練期的皮質骨的厚度、面積與轉動慣量矩的差異百分比之比較。以單因子變異數分析進行的結果達顯著水準，經事後比較發現：二週、四週與八週皮質骨面積的差異百分比顯著高於一週，四週又高於二週（圖 9A）；皮質骨厚度呈現與面積相同的結果（圖 9B）。轉動慣量矩在四週與八週皆顯著高於一週與二週，另外，四週又高於八週（圖 9C）。其中一週在這三項參數的差異百分比皆為負值（圖 9）。

二、脛骨

結果顯示，八週落地訓練組在轉動慣量矩、皮質骨面積、厚度與斷面高度經訓練後顯著高於八週對照組，其餘參數皆未達顯著水準（表 6）。

如同股骨進行差異百分比的比較發現，脛骨皮質骨的面積亦達顯著水準（圖 10A），經事後比較指出，二週分別顯著低於一週、四週與八週；一週與四週又顯著低於八週。皮質骨厚度的差異百分比呈現與面積相同的結果（圖 10B）。脛骨的轉動慣量矩差異百分比達顯著差異，經事後比較發現，八週與四週顯著高於一週、二週，八週又高於四週（圖 10C）。

表 5 股骨斷面參數

	1-Week			2-Week			4-Week			8-Week		
	E1	C1	<i>p</i>	E2	C2	<i>p</i>	E4	C4	<i>p</i>	E8	C8	<i>p</i>
	n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=11		n=12	n=12	
轉動慣量矩 (mm ⁴)	6.67±0.30	6.96±0.31	.505	6.46±0.36	6.70±0.37	.656	8.40±0.45	7.41±0.37	.110	8.79±0.51	8.18±0.35	.332
皮質骨面積 (mm ²)	6.24±0.15	6.78±0.12	.009*	6.43±0.26	6.45±0.13	.949	7.25±0.09	6.81±0.10	.004*	7.80±0.10	7.59±0.14	.219
橫斷面面積 (mm ²)	10.77±0.21	10.85±0.31	.826	10.67±0.28	10.76±0.27	.827	11.67±0.23	11.00±0.27	.072	11.92±0.26	11.74±0.18	.570
骨髓腔面積 (mm ²)	4.53±0.12	4.07±0.23	.101	4.24±0.23	4.31±0.25	.846	4.42±0.17	4.19±0.21	.412	4.11±0.19	4.15±0.13	.879
皮質骨厚度 (mm)	0.63±0.01	0.69±0.01	.000*	0.66±0.02	0.66±0.01	.994	0.72±0.01	0.69±0.01	.030*	0.78±0.01	0.75±0.01	.122
斷面高度 (mm)	3.32±0.04	3.34±0.04	.796	3.28±0.03	3.27±0.04	.908	3.47±0.05	3.35±0.04	.077	3.37±0.05	3.38±0.05	.890
斷面寬度 (mm)	4.10±0.07	4.06±0.10	.704	4.13±0.08	4.21±0.08	.481	4.17±0.06	4.05±0.07	.175	4.36±0.05	4.34±0.05	.755

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。*表示 $p < .05$ ，組間達顯著差異。

表 6 脛骨斷面參數

	1-Week			2-Week			4-Week			8-Week		
	E1	C1	<i>p</i>	E2	C2	<i>p</i>	E4	C4	<i>p</i>	E8	C8	<i>p</i>
	n=10	n=12		n=10	n=9		n=12	n=12		n=12	n=12	
轉動慣量矩 (mm ⁴)	3.50±0.22	3.50±0.29	.988	2.91±0.19	3.17±0.24	.402	3.56±0.20	3.40±0.16	.535	3.87±0.10	3.41±0.16	.020*
皮質骨面積 (mm ²)	4.50±0.13	4.32±0.15	.381	4.23±0.21	4.59±0.19	.220	5.13±0.11	5.07±0.11	.728	5.43±0.07	5.09±0.10	.010*
橫斷面面積 (mm ²)	7.51±0.22	7.40±0.35	.813	6.86±0.31	6.87±0.33	.992	7.44±0.20	7.31±0.16	.612	7.58±0.12	7.33±0.17	.244
骨髓腔面積 (mm ²)	3.00±0.20	3.08±0.24	.819	2.63±0.27	2.27±0.16	.276	2.31±0.12	2.24±0.12	.660	2.15±0.13	2.24±0.11	.600
皮質骨厚度 (mm)	0.55±0.02	0.52±0.02	.268	0.54±0.03	0.59±0.01	.125	0.65±0.01	0.65±0.01	.922	0.70±0.02	0.65±0.01	.009*
斷面高度 (mm)	2.86±0.07	2.89±0.07	.803	2.76±0.07	2.73±0.06	.727	2.86±0.06	2.78±0.05	.290	2.88±0.04	2.75±0.04	.036*
斷面寬度 (mm)	3.40±0.07	3.26±0.09	.236	3.18±0.10	3.28±0.08	.483	3.33±0.05	3.33±0.05	.956	3.36±0.04	3.38±0.06	.869

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。*表示 $p < .05$ ，組間達顯著差異。

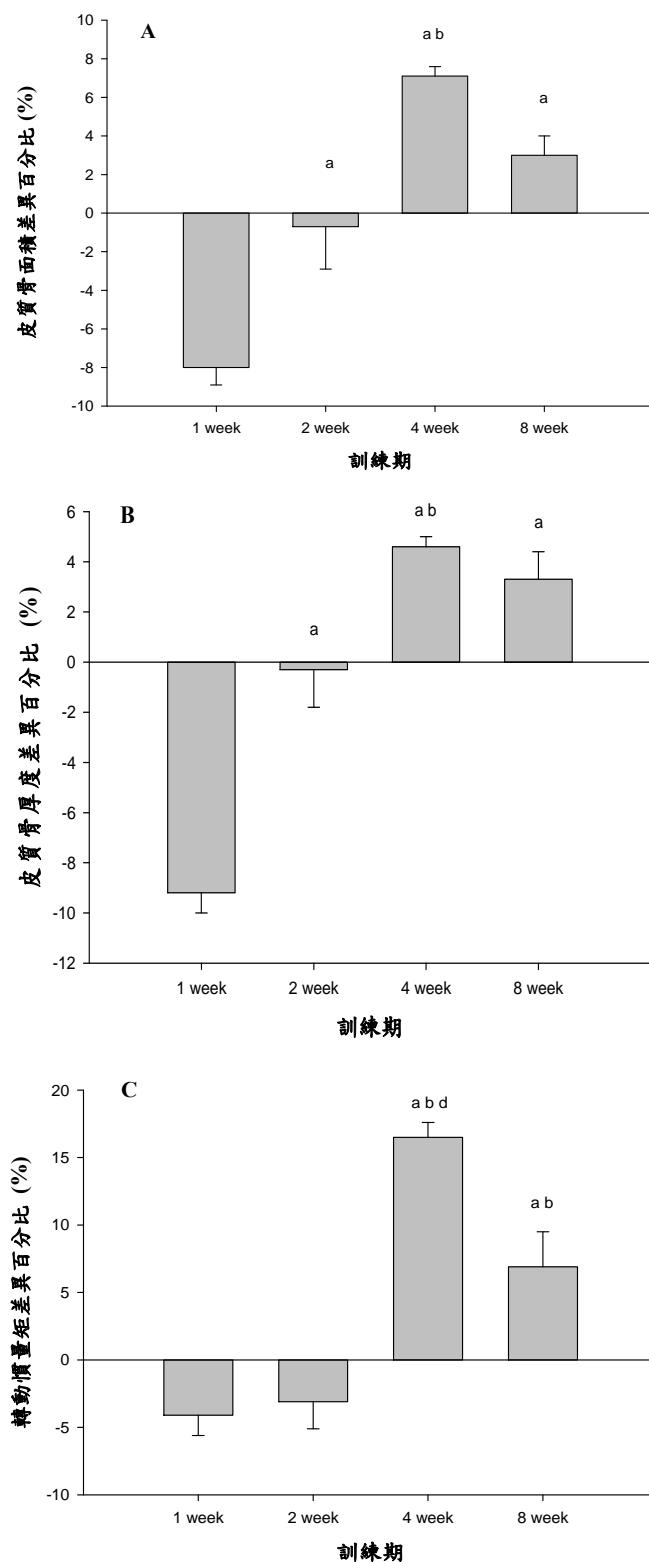


圖 9 四個訓練期的落地訓練組與對照組的股骨斷面參數差異百分比

A：皮質骨面積；B：皮質骨厚度；C：轉動慣量矩。所有數值以平均數 ± 標準誤表示。各時間點兩組差異百分比是以 (落地訓練組-對照組)/對照組×100% 公式進行計算。a 表示顯著高於 1 week 組 ($p < .05$)；b 表示顯著高於 2 week 組 ($p < .05$)；d 表示顯著高於 8 week 組 ($p < .05$)。

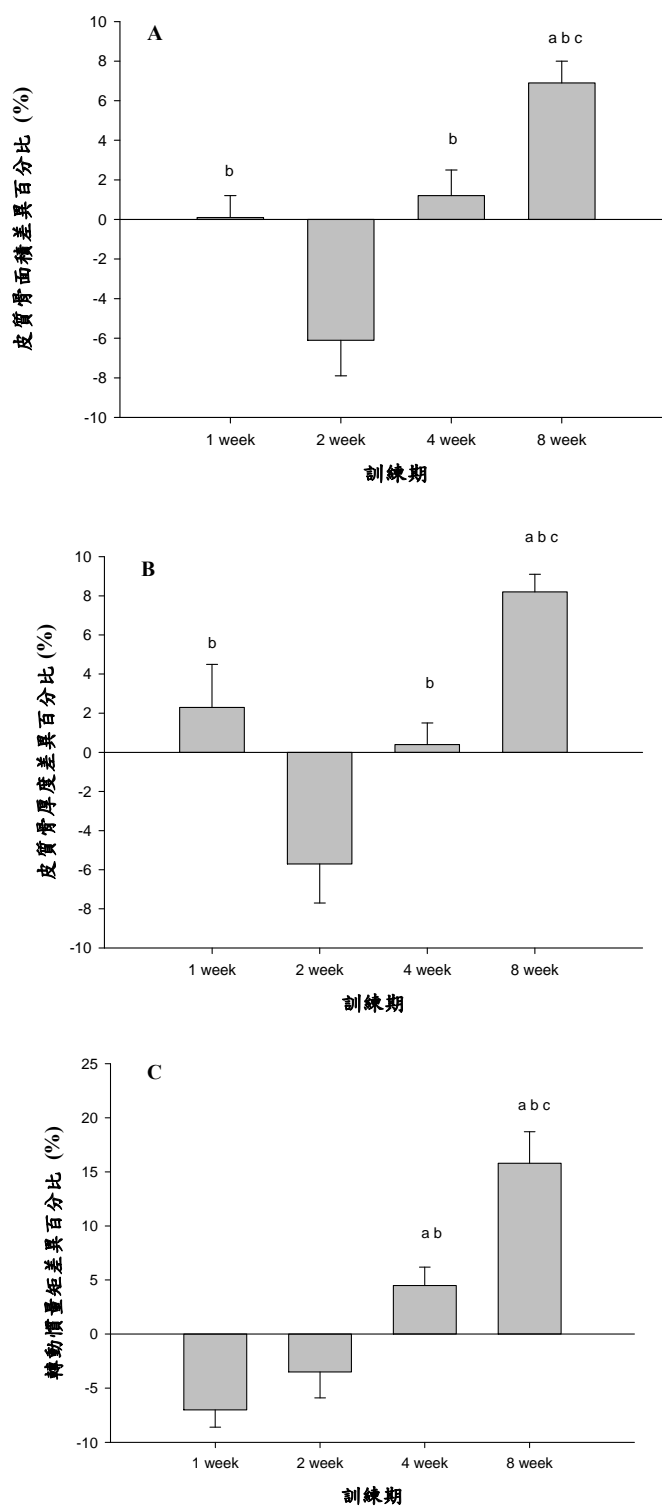


圖 10 四個訓練期的落地訓練組與對照組的脛骨斷面參數差異百分比

A：皮質骨面積；B：皮質骨厚度；C：轉動慣量矩。所有數值以平均數 ± 標準誤表示。各時間點兩組差異百分比是以 $(\text{落地訓練組}-\text{對照組})/\text{對照組}\times 100\%$ 公式進行計算。a 表示顯著高於 1 week 組 ($p<.05$)；b 表示顯著高於 2 week 組 ($p<.05$)；c 表示顯著高於 4 week 組 ($p<.05$)。

第五節 海綿骨的骨生成與骨吸收參數

本研究的海綿骨之骨生成與骨吸收參數，是以海綿骨表面所分佈的鹼性磷酸酶與破骨細胞所代表。分別以股骨遠端與脛骨近端的海綿骨進行切片染色分析，結果如圖 11A 和 B 所示，股骨與脛骨的鹼性磷酸酶分佈百分比皆在八週落地訓練組顯著高於八週對照組。另外，脛骨的鹼性磷酸酶分佈百分比則在四週訓練後呈現低於對照組的趨勢 ($p=.053$) (圖 11 B)。

如圖 12B 所示，脛骨的破骨細胞數目，八週落地訓練組顯著低於其對照組，其餘各組無顯著差異，唯四週落地訓練組具有低於其對照組的趨勢 ($p=.081$)。另外，股骨的破骨細胞數目則在一週訓練後即顯著的低於對照組，其餘各組皆無顯著差異 (圖 12A)。

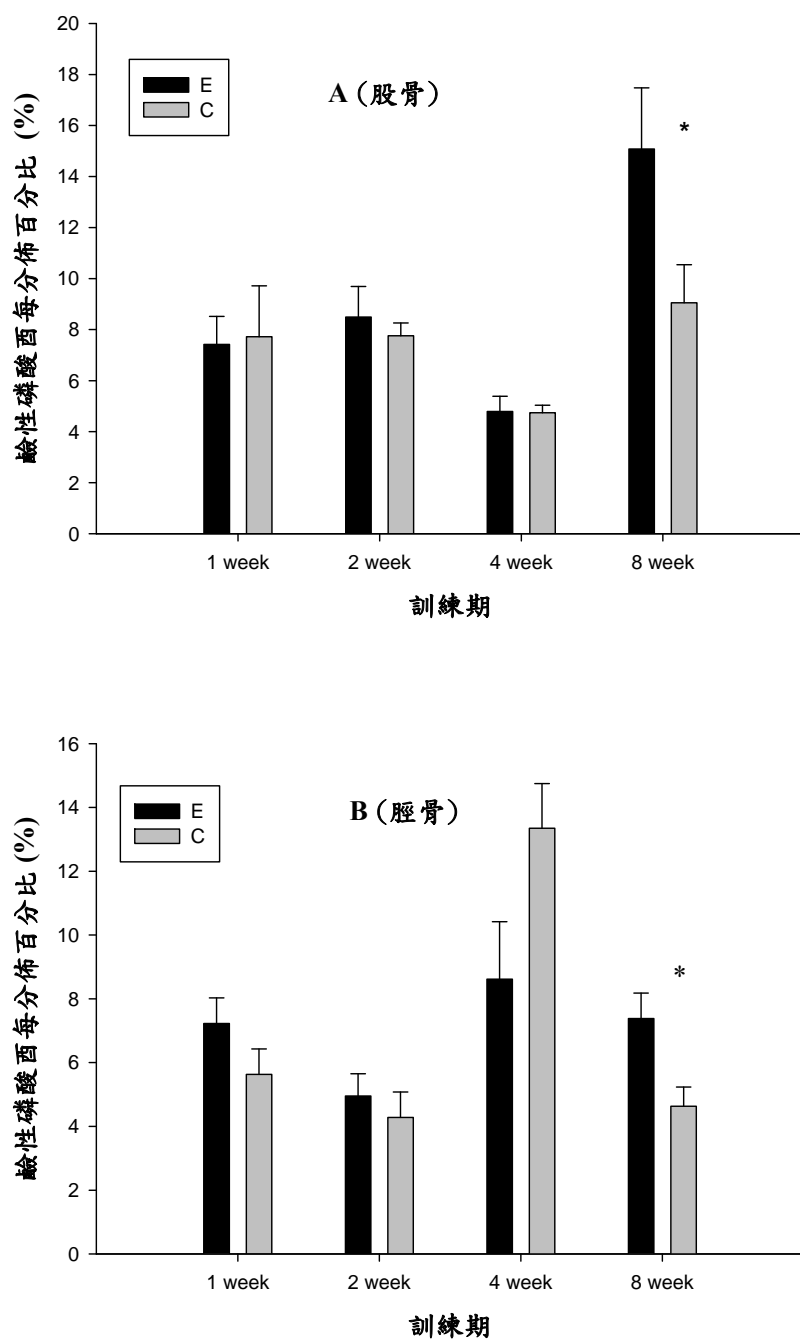


圖 11 海綿骨的鹼性磷酸酶分佈百分比

註：A 圖為股骨的資料；B 圖為脛骨的資料。所有數值以平均數 ± 標準誤表示。ALP，鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase)，用以代表骨生成指數。鹼性磷酸酶分佈百分比是以 $(\text{ALP 表現周長}/\text{骨表面周長}) \times 100\%$ 之公式進行計算；*表示組間達顯著差異 ($p < .05$)。

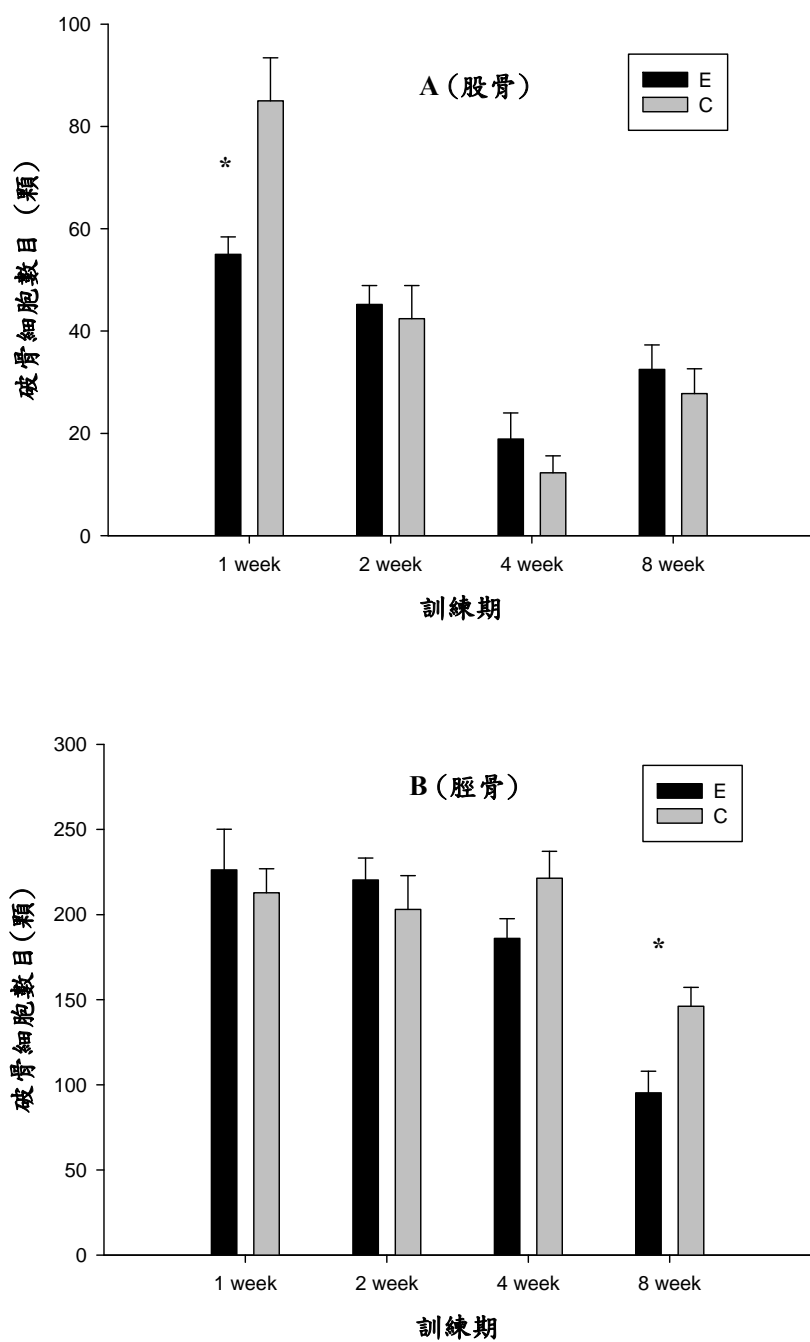


圖 12 海綿骨的破骨細胞數目

註：A 圖為股骨的資料；B 圖為脛骨的資料。所有數值以平均數 ± 標準誤表示。Osteoclast number，破骨細胞數目，用以代表骨吸收指數；*表示組間達顯著差異 ($p < .05$)。

第六節 骨密度與海綿骨結構

本研究的皮質骨骨密度、海綿骨骨密度與結構是以微型電腦斷層掃描 (micro-computed tomography, μ CT) 進行測量。以下分成骨密度與海綿骨結構兩個部分進行敘述：

一、骨密度 (bone mineral density, BMD)

骨密度在股骨與脛骨皆有進行分析，每一骨骼樣本又分為皮質骨與海綿骨區域兩部分進行分析。因此，在骨密度共分成二項呈現，分別為股骨與脛骨的皮質骨 BMD、股骨與脛骨的海綿骨 BMD。

(一) 股骨與脛骨的皮質骨 BMD

股骨與脛骨的皮質骨骨密度在四個訓練期與其對照組皆未達顯著差異，如圖 13A 和 B。

(二) 股骨與脛骨的海綿骨 BMD

股骨海綿骨的骨密度結果如圖 14A 顯示，一週與二週訓練後分別呈現略低於其一週與二週的對照組，但未達顯著水準。經過四週的訓練後才略高於四週對照組，最終在八週訓練後顯著高於八週對照組。脛骨海綿骨的結果與股骨海綿骨呈現類似的發展趨勢 (圖 14B)，皆是在訓練初期先出現微幅的下降，經過四週的訓練後便可轉為微幅的上升，而在八週落地訓練後顯著的高於八週對照組。

二、海綿骨結構

無論是股骨或是脛骨，其呈現海綿骨結構參數的結果與海綿骨骨密度極為相似，皆是八週訓練後，在骨量比率、海綿骨厚度與海綿骨數目顯著高於八週對照組，除了脛骨的海綿骨數目是以趨近顯著水準之外 ($p=.051$) (表 7 和表 8)。

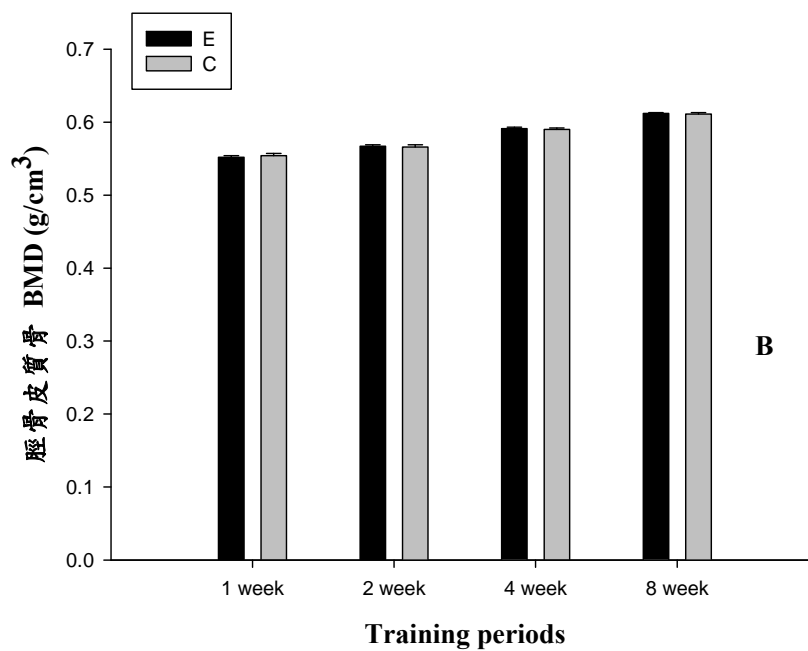
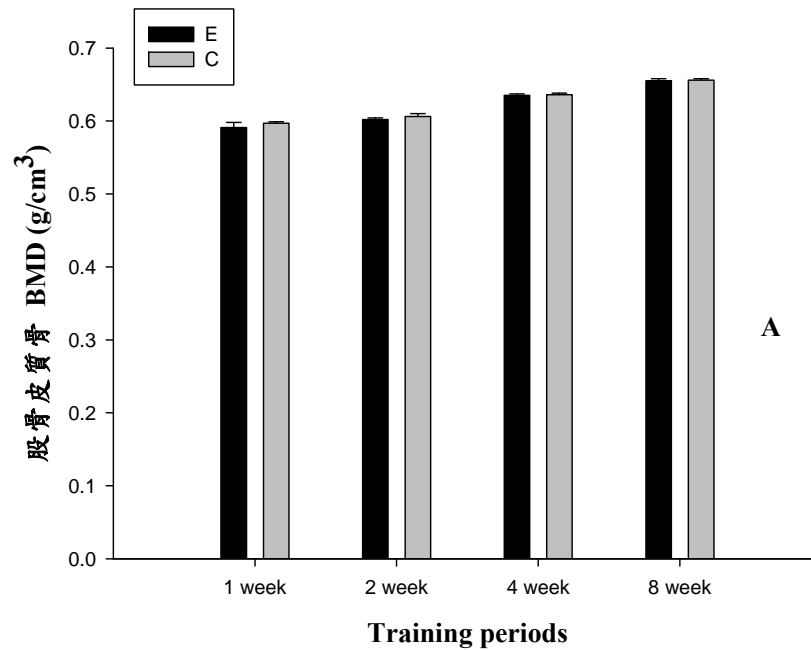


圖 13 股骨與脛骨的皮質骨骨密度

註：A 圖為股骨皮質骨骨密度 (femoral cortical bone mineral density)；B 圖為脛骨皮質骨骨密度 (tibial cortical bone mineral density)；所有數值以平均數 \pm 標準誤表示。所有數值單位為 g/cm^3 。

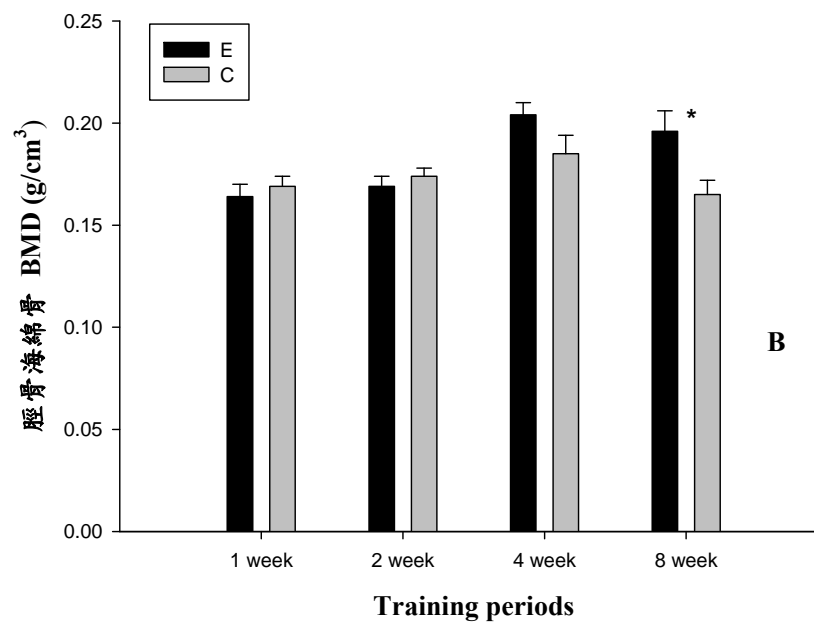
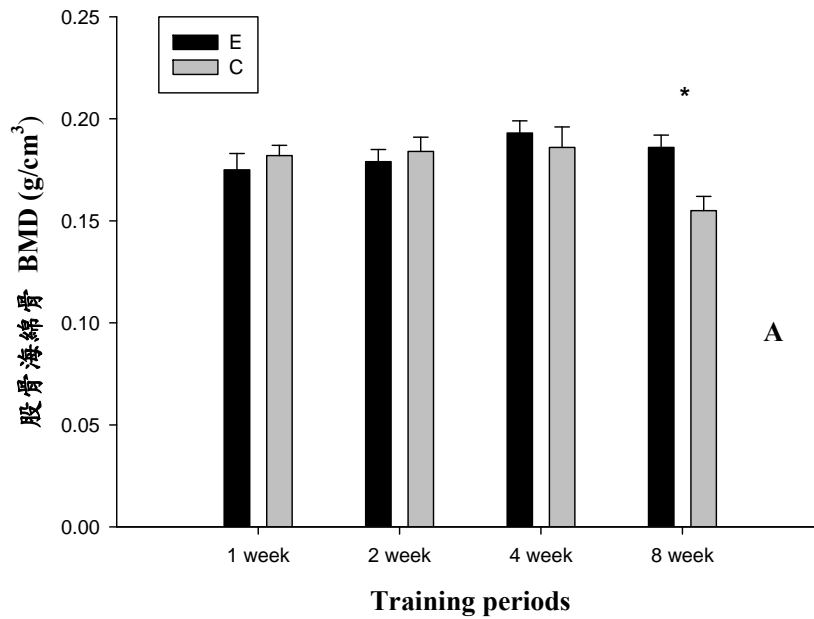


圖 14 股骨與脛骨的海綿骨骨密度

註：A 圖為股骨海綿骨骨密度 (femoral spongy bone mineral density)；B 圖為脛骨海綿骨骨密度 (tibial spongy bone mineral density)；所有數值以平均數 \pm 標準誤表示。所有數值單位為 g/cm^3 。*表示 $p < .05$ ，組間達顯著差異。

表 7 股骨海綿骨結構

	1-Week			2-Week			4-Week			8-Week		
	E1	C1	<i>p</i>	E2	C2	<i>p</i>	E4	C4	<i>p</i>	E8	C8	<i>p</i>
	n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=12		n=11	n=12	
骨量比率(%)	17.9±1.4	19.4±1.0	.386	19.0±0.9	19.9±1.3	.564	19.4±1.1	18.9±1.5	.782	17.6±1.0	12.9±1.0	.003*
厚度 (µm)	100.4±1.4	100.8±1.1	.824	106.7±0.9	109.5±1.3	.096	115.5±2.7	115.7±2.5	.961	118.3±2.2	110.5±1.9	.013*
數目 (1/mm)	1.77±0.12	1.92±0.09	.316	1.78±0.08	1.81±0.10	.804	1.68±0.08	1.62±0.11	.658	1.49±0.06	1.16±0.08	.005*
間距 (µm)	556.9±12.7	535.3±12.1	.232	567.7±18.4	556.7±10.8	.611	624.1±10.3	598.5±15.5	.185	631.2±17.7	657.7±18.0	.307

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。*表示 $p < .05$ ，組間達顯著差異。

表 8 脛骨海綿骨結構

	1-Week			2-Week			4-Week			8-Week		
	E1	C1	<i>p</i>	E2	C2	<i>p</i>	E4	C4	<i>p</i>	E8	C8	<i>p</i>
	n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=12	
骨量比率(%)	14.8±0.9	15.0±0.9	.845	14.4±0.7	15.7±0.7	.178	20.1±1.0	17.9±1.3	.206	16.8±1.3	12.6±0.8	.013*
厚度 (μm)	85.3±0.9	87.4±0.7	.080	93.1±1.7	93.4±0.8	.879	105.9±2.7	103.5±1.8	.356	115.4±3.2	103.5±1.3	.003*
數目 (1/mm)	1.72±0.10	1.71±0.10	.964	1.54±0.06	1.69±0.07	.136	1.89±0.08	1.71±0.11	.208	1.43±0.08	1.22±0.07	.051
間距 (μm)	972.7±14.1	1012.7±14.7	.061	1027.9±11.4	979.6±27.2	.116	1064.5±15.7	1028.1±18.2	.144	1113.4±13.3	1095.2±11.2	.307

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。*表示 $p < .05$ ，組間達顯著差異。

第七節 骨骼生物力學特性

在骨骼生物力學特性的部分，以下分為股骨與脛骨兩個部分描述：

一、股骨

股骨生物力學特性顯示，八週落地訓練組經訓練後在斷裂負荷值、降伏點負荷值、降伏點所需能量值都顯著高於八週對照組 ($p<.05$) (表 9)，降伏點應力值與降伏點堅韌度則是具有高於對照組的趨勢 ($p=.067$ 和 $p=.091$) (表 10)。此外，一週落地訓練組經訓練後，其斷裂負荷值顯著低於一週對照組，其餘時間點皆未達顯著水準 (表 9)。

二、脛骨

結果顯示，只有斷裂負荷值呈現落地訓練組經 8 週訓練後顯著高於八週對照組，其餘各項參數與時間點皆未達顯著差異 (表 11 與表 12)。

進行股骨與脛骨的斷裂負荷值的差異百分比分析則發現，經一週訓練後的股骨之斷裂負荷值會呈現約-13%的差異，在二週與四週後則分別變為約 3%與-3%，至八週後則顯著高於其他三個時間點，達約 15%的差異 (圖 15A)。相反的，脛骨則是在二週後才變為-3%的差異，也是到八週後高於二週此時間點，達約 11%的差異 (圖 15B)。

表 9 股骨生物力學特性 (結構層次)

	1-Week			2-Week			4-Week			8-Week		
	E1	C1	<i>p</i>	E2	C2	<i>p</i>	E4	C4	<i>p</i>	E8	C8	<i>p</i>
	n=12	n=12		n=12	n=11		n=12	n=12		n=12	n=12	
降伏點負荷值 (N)	82.41	86.16	.092	95.21	87.11	.252	101.45	101.35	.989	117.76	99.10	.003*
	±1.16	±1.78		±4.15	±5.58		±2.68	±6.87		±4.40	±3.48	
斷裂負荷值 (N)	67.07	76.84	.049*	86.55	86.79	.960	115.40	119.25	.412	126.7	111.86	.009*
	±3.43	±3.19		±1.87	±4.41		±3.04	±3.46		±4.08	±3.24	
達降伏點所需的能量值 (mJ)	39.76	40.96	.803	40.74	35.93	.236	25.49	28.36	.488	36.37	27.69	.024*
	±1.58	±4.56		±2.76	±2.82		±2.54	±3.21		±2.39	±2.66	
降伏點後所能吸收的能量值 (mJ)	39.81	34.32	.384	34.48	30.78	.678	24.8	25.87	.843	12.12	14.43	.517
	±4.56	±4.20		±6.17	±6.25		±3.65	±3.30		±2.04	±2.86	
達斷裂負荷所需的能量值 (mJ)	79.57	75.29	.484	75.22	66.71	.418	50.37	54.78	.340	48.49	42.13	.126
	±4.38	±4.13		±7.74	±6.67		±3.32	±3.07		±3.03	±2.61	
硬度 (N/mm)	107.08	104.21	.677	154.87	141.33	.498	315.16	265.00	.101	267.01	271.45	.877
	±4.24	±5.20		±12.08	±15.70		±18.70	±22.61		±18.65	±21.52	

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。*表示 $p < .05$ ，組間達顯著差異。

表 10 股骨生物力學特性 (組織層次)

	1-Week			2-Week			4-Week			8-Week		
	E1	C1	<i>p</i>	E2	C2	<i>p</i>	E4	C4	<i>p</i>	E8	C8	<i>p</i>
	n=12	n=12		n=12	n=11		n=12	n=11		n=12	n=12	
降伏點應力 (MPa)	118.92	117.26	.816	138.17	126.00	.322	120.33	130.07	.350	131.20	115.98	.067
	±4.50	±5.41		±7.67	±9.32		±5.27	±8.96		±5.71	±5.45	
降伏點堅韌度 (mJ/mm ³)	3.27	3.38	.784	3.26	2.90	.311	1.74	2.03	.281	2.32	1.87	.091
	±0.22	±0.32		±0.25	±0.24		±0.15	±0.22		±0.15	±0.21	
楊氏係數 (Gpa)	2.73	2.51	.263	4.10	3.74	.552	6.41	6.34	.925	5.31	5.58	.713
	±0.16	±0.10		±0.37	±0.47		±0.50	±0.49		±0.58	±0.46	

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。

表 11 脛骨生物力學特性 (結構層次)

	1-Week			2-Week			4-Week			8-Week		
	E1	C1	<i>p</i>	E2	C2	<i>p</i>	E4	C4	<i>p</i>	E8	C8	<i>p</i>
	n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=12		n=12	n=12	
降伏點負荷值 (N)	56.67	60.48	.334	68.57	70.34	.685	81.20	79.38	.610	90.02	85.11	.288
	±2.16	±3.00		±3.44	±2.41		±2.53	±2.45		±2.53	±3.74	
斷裂負荷值 (N)	67.75	66.56	.782	70.37	71.82	.808	86.36	82.16	.399	98.61	88.92	.010*
	±3.34	±2.64		±4.84	±3.35		±3.25	±3.64		±2.49	±2.40	
達降伏點所需的能量值 (mJ)	18.33	21.41	.172	26.97	27.22	.932	26.07	25.55	.845	28.39	30.17	.652
	±1.05	±1.78		±2.31	±1.78		±2.23	±1.47		±1.98	±3.36	
降伏點後所能吸收的能量值 (mJ)	36.14	36.81	.926	35.76	49.86	.295	49.10	42.77	.603	37.09	30.96	.328
	±6.78	±3.17		±6.78	±11.53		±11.10	±4.56		±3.83	±4.78	
達斷裂負荷所需的能量值 (mJ)	53.93	58.22	.546	60.63	76.32	.188	75.17	68.31	.611	65.48	61.13	.608
	±5.68	±4.06		±5.94	±9.92		±12.10	±5.48		±4.39	±7.11	
硬度 (N/mm)	108.96	107.70	.870	115.57	106.06	.475	171.17	156.53	.340	183.20	162.85	.196
	±4.99	±5.74		±19.18	±9.30		±11.74	±9.33		±9.34	±12.08	

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。*表示 $p < .05$ ，組間達顯著差異。

表 12 脛骨生物力學特性 (組織層次)

	1-Week		<i>p</i>	2-Week		<i>p</i>	4-Week		<i>p</i>	8-Week		<i>p</i>
	E1	C1		E2	C2		E4	C4		E8	C8	
	n=10	n=12		n=10	n=9		n=12	n=12		n=12	n=12	
降伏點應力 (MPa)	139.10	155.01	.244	179.59	173.14	.606	175.46	173.42	.808	183.07	187.44	.498
	±5.52	±11.13		±7.90	±9.50		±7.24	±4.10		±5.12	±3.74	
降伏點堅韌度 (mJ/mm ³)	2.28	2.74	.112	3.18	3.06	.772	2.53	2.46	.797	2.72	2.94	.530
	±0.15	±0.21		±0.29	±0.25		±0.22	±0.15		±0.20	±0.28	
楊氏係數 (Gpa)	5.35	5.50	.819	6.55	6.07	.584	8.46	7.77	.505	8.00	8.17	.837
	±0.31	±0.52		±0.68	±0.50		±0.90	±0.47		±0.52	±0.63	

所有數值以平均數 ± 標準誤表示。

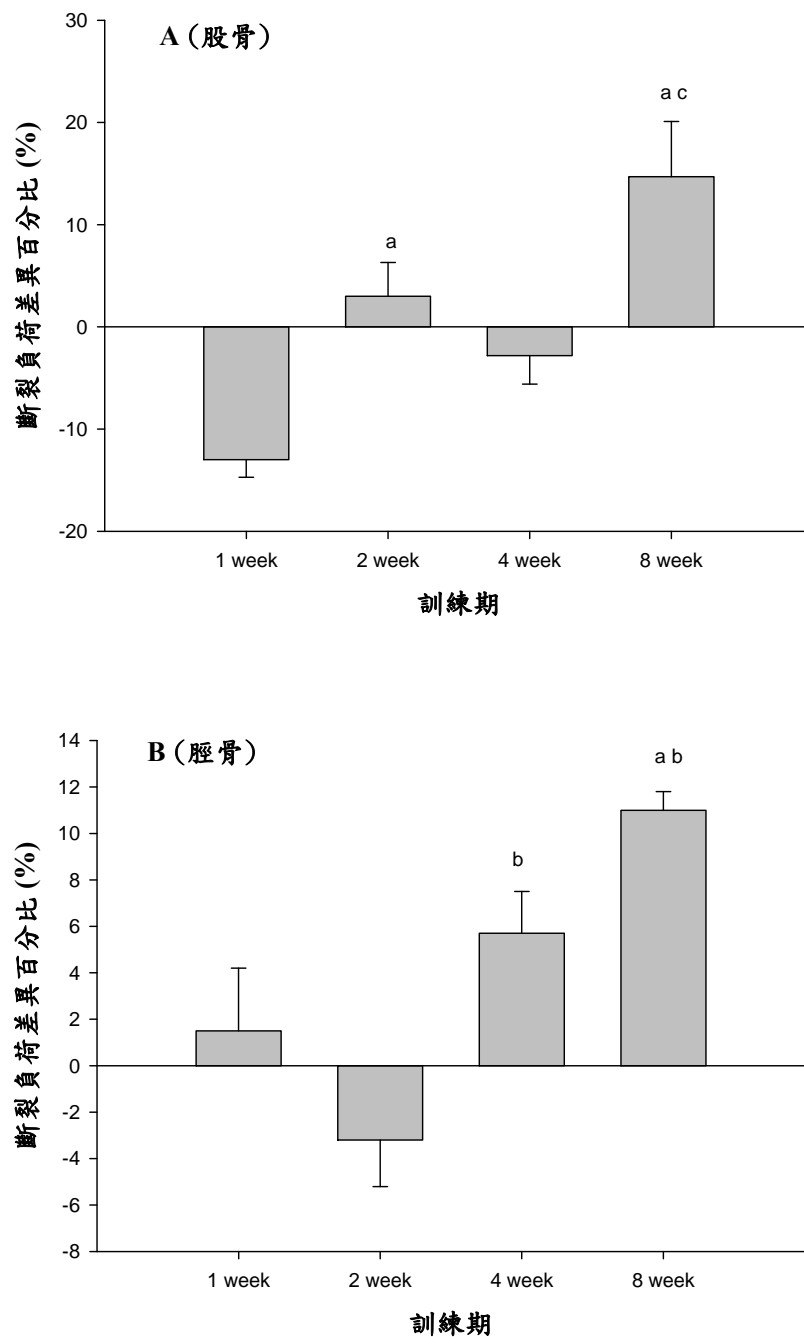


圖 15 四個訓練期的落地訓練組與對照組的骨骼斷裂負荷值的差異百分比

註：A 圖為股骨的資料；B 圖為脛骨的資料。所有數值以平均數 ± 標準誤表示。各時間點兩組差異百分比是以 $(\text{落地訓練組}-\text{對照組})/\text{對照組}\times 100\%$ 公式進行計算。a 表示顯著高於 1 week 組 ($p<.05$)；b 表示顯著高於 2 week 組 ($p<.05$)；c 表示顯著高於 4 week 組 ($p<.05$)。

第五章 討論

機械性負荷對骨代謝影響的相關動物實驗研究，大部分是從機械裝置給予局部骨組織作用力的研究而來，此種負荷與人體實際的運動模式具有差異存在。反觀本研究所採用之落地訓練模型，是一種較貼近人體運動的模式，然而，先前有關落地訓練對骨代謝的研究均僅限於單一時間點，本研究以四個時間點設計，可相對清楚反映骨骼承受機械性衝擊後在時間序列上的適應情形。此外，加以觀察八週之間落地時的地面反作用力變化，進一步可輔佐說明動物適應的現象。

從本研究的結果可發現，股骨的皮質骨在落地訓練初期（一週）會產生短暫的不適應，使其面積與厚度縮小，進而使得組織生物力學強度減弱。但經過四週的訓練適應後，其面積與厚度便顯著高於對照組，待骨骼經過八週較完整的骨再塑週期，骨組織生物力學強度即會高於對照組。另外，脛骨與股骨的海綿骨組織可能由於本研究所採用之大鼠在實驗初期正處於快速成長階段，骨更新率（bone turnover rate）高，較難在實驗初期觀察到對落地訓練的反應，而在訓練經過八週之後，大鼠逐漸成熟，海綿骨更新率下降，才呈現落地訓練對海綿骨的效益

由於落地訓練造成的地面反作用力會相異地分佈於股骨與脛骨，皮質骨與海綿骨承受負荷後所產生的反應也不相同。因此，為了更清楚討論落地模型對骨骼影響的時間序列之內容，本章主要分成以下部分進行討論：一、落地訓練的動物模型：實驗控制的適當性；二、不同期間的落地衝擊對皮質骨的影響；三、不同期間的落地衝擊對海綿骨的影響；四、綜合討論；伍、結論與建議。

第一節 落地訓練的動物模型：實驗控制的適當性

本研究試圖探討成長中的骨骼對落地衝擊負荷的影響，而從大鼠的體重與長骨的長度都顯示，各時間點的體重與骨長度基本上都隨著週齡漸增而變重與變長，證實研究期間，實驗動物的自然生長與發展大體上而言並未受到干擾。唯自然生長之過程並非本研究要點，在此不額外討論。

如先前的研究顯示，落地訓練對於骨骼只會產生局部性的刺激，並不會造成體重上的改變，無論一週 (Lin et al., 2011)、三週 (Judex & Zernicke, 2000b)、八週 (Welch et al., 2004) 皆是相同的情況。本研究共設置四個訓練期，而各期的落地訓練組與對照組的訓練後體重並無差異，再一次證實此模型不會影響體重的變化。

觀察骨骼承受負荷的數值可分為直接測量與間接測量兩種方式，直接測量的是以外科手術方式裝置應變探測器於骨骼上，其可用來觀察骨骼產生形變情形，此方法較為精確；間接的方式則是利用介質反作用力（或地面反作用力）的測量來取得骨骼承受的負荷，所得數據雖可代表衝擊的強度，卻缺乏骨骼的形變值。本研究曾於文獻探討提及，形變率是刺激骨生長的一項重要指標。但本研究考慮到模型的應用性，故以能夠用於未來推論在人體上為主。由於在人體的骨骼裝置形變探測器涉及道德上與方法上的限制，再加上先前亦有文獻指出，地面反作用力的數值與承受負荷之骨組織形變率有正相關 (Edwards et al., 2009)，所以本研究以測量地面反作用力作為負荷強度探討的依據。

根據本研究得到的八週共 16 次的地面反作用力數據顯示，除了第一次進行地面反作用力蒐集時，可能由於動物對落地動作的不熟悉與衝擊強度的不適應，所以其測量值介於 12 倍體重左右之外，在經過數日的適應與學習之後（第五天），測量值則下降至 8 倍體重左右，此下降的幅度類似於先前的研究（林欣仕等，2010）。第二週後各時間點的地面反作用力則介於 6-8 倍體重，此數值相當於年輕兒童從 61 公分處往下跳的地面反作用力（8.8 倍體重） (Fuchs, Bauer, & Snow, 2001)，此外，青春期的體操選手訓練時的各項動作之地面反作用力介於 3.6-10.4 倍體重 (Daly, Rich, Klein, & Bass, 1999)，優秀籃球選手執行跳投與上籃後落地時則會分別產生 6 與 8.9 倍體重的地面反作用力 (Mcclay et al., 1994)。

綜合上述，本研究之八週的地面反作用力，可某種程度的與人類真實運動情境相比擬。因此，就體重、骨長度與地面反作用力三項指標可以證明本研究所採用之落地衝擊訓練對成長中大鼠骨骼的適用性。

第二節 不同期間的落地衝擊對皮質骨的影響

本研究在皮質骨的數據蒐集，分別有斷面參數、皮質骨骨密度、骨骼生物力學特性。有關皮質骨的討論，由於本研究分析不同受力的骨骼，因而在此將分成股骨與脛骨兩部分進行討論。

一、股骨皮質骨

本研究進行一週的落地訓練後發現，股骨皮質骨的面積與厚度顯著低於未接受訓練的對照組。雖未造成皮質骨骨密度的差異，但此縮減的皮質骨面積與厚度確實導致訓練組的斷裂負荷值顯著低於對照組，如此的現象可能是由於骨骼尚未適應運動刺激而造成短暫的骨強度減低。先前研究指出，過大的衝擊使骨骼產生損害可能會引起骨細胞死亡 (osteocyte apoptosis) (Verborgt, Gibson, & Schaffler, 2000)，其死亡後會增加 receptor activator of NF κ B ligand (RANKL) 的表現而引發破骨細胞的活化，進而促進骨吸收作用增加 (Robling et al., 2006)。本研究雖未分析皮質骨的破骨細胞，但從落地訓練組的骨髓腔面積高於其對照組約11%即可間接證實，經過一週的衝擊會引發骨內膜吸收作用增加，這也是導致皮質骨的面積與厚度下降而影響骨強度的原因。

然而，上述的作用目的在於引起骨再塑來修補因外力衝擊所造成的骨骼微小裂縫或損害，骨強度的降低為短暫性。經過較長的訓練期後，此一短暫的不適應便不再呈現，因為本研究的大鼠在經過兩週訓練後的股骨皮質骨各項參數與其控制組並無差異存在，更在訓練期達四週後，皮質骨的面積與厚度最終顯著高於其對照組 (表 5)。較高的面積與厚度的貢獻來自於機械性負荷引發骨生成作用而使得骨外膜向外擴展，這可從本研究的總橫斷面積可得知此時期 (四週) 訓練組趨近顯著高於其對照組 ($p=.072$)。雖然四週訓練期增加皮質骨的面積與厚度，卻並未反映在骨骼的生物力學特性。此現象的原因似乎在於落地訓練雖促進骨生成作用而增加面積與厚度，但在骨骼生物力學特性方面，骨組織似乎需要更長的時間進行骨再塑作用或骨組織內的重整 (例如：膠原纖維的排列、膠原纖維與氫氧磷灰石結晶之間的整合)，才能進一步將落地訓練正面效益表現在骨組織生物力學強度上。如同本研究的八週訓練組的數據顯示，骨骼生物力學特性的

多項指標明顯高於其對照組。

以上各訓練期的股骨斷面參數與骨骼生物力學特性可證實落地訓練對骨骼發展的效應具有時間序列的效果，類似的結果曾在過去尺骨軸壓負荷 (axial compressive load) 的實驗中有呈現過 (Hsieh & Silva, 2002)。此研究以機械裝置進行大鼠的尺骨軸壓 (peak force 13.3 N, 2 Hz)，再給予 0、6、12、18 天等四個時間的恢復期，觀察骨生成、骨吸收、骨密度與骨組織生物力學的反應。結果顯示，骨組織的斷裂負荷值在第 0 天會下降約 50%，至 12 天恢復到控制組的水準，在 18 天後才會增加 20%；骨吸收作用與骨密度也都隨著恢復時間的增加而上升。上述研究雖已指出骨骼承受機械性負荷的初期會發生暫時性的虛弱，經過時間適應後可恢復，但其機械性負荷必須透過麻醉與上述機械裝置所達成。本研究則是第一篇以趨近於自然運動模式介入以觀察骨骼適應外力負荷的動物模型。此外，落地訓練導致虛弱的骨組織並無像尺骨軸壓嚴重，本研究訓練初期只引起股骨的皮質骨面積、厚度與轉動慣量矩下降約至 6-8%，還有斷裂負荷值下降約 15%；而尺骨軸壓負荷的研究，則會降低 50%的斷裂負荷值與硬度、改變皮質骨的材料特性 (Chen et al., 2008; Hsieh & Silva, 2002)，並且減少骨骼的縱向生長 (Ohashi, Robling, Burr, & Turner, 2002)。

另外，有關本研究股骨的皮質骨骨密度並未隨著訓練而增加，也未隨著皮質骨的面積與厚度上升而提高，甚至八週的訓練也沒有效果產生。針對此現象本研究有兩種解釋：(一) 事實上，機械性負荷可增加皮質骨面積而未伴隨骨密度的提高 (Bass et al., 2002)，原因可能在於面積增加導致骨骼多孔性變多，進而減低氫氧磷灰石的密集性，促使骨密度並未改變。(二) 本研究分析的指數為體積骨密度 (g/cm^3)，與雙能X光吸收儀 (dual-energy X-ray absorptiometry, DEXA) 所得到的面積骨密度 (g/cm^2) 與骨量 (g) 並不相同。以 1g (長：1cm、寬 1cm、高 1cm) 與 8g (長：2cm、寬 2cm、高 2cm) 兩個物體為例，後者的骨量 (1:8) 與面積骨密度 (1:2) 較前者高，但其體積骨密度卻是相同。上述原因可能是本研究訓練組皮質骨面積增加卻未見骨密度增加之原因。

二、脛骨皮質骨

脛骨皮質骨的骨代謝和發展與股骨極為相似，然由於落地時的動力鏈不同，產生不

同的作用力於兩肢段的骨骼，而可能造成兩者局部骨代謝面對落地訓練刺激的反應或適應，在時間序列上的差異。從脛骨的斷面參數發現，運動初期時並未造成類似於股骨的現象，反而是在二週訓練後才呈相同的趨勢，雖然未達顯著水準（表 6），但若是從差異百分比觀察，確實可得到類似股骨的適應行為（圖 10），但整體的適應時程則向後延伸。造成脛骨延至二週才出現不適應的現象，可能的原因在於脛骨承受的機械性負荷相較於股骨小。研究指出，肌肉牽張 (muscle stretch) 在機械性負荷對骨骼的影響中扮演重要的角色 (Robling, 2009)，而執行跳躍與落地動作時，股四頭肌 (quadriceps) 使用的比例高於小腿肌 (calf muscles) (Finni, Komi, & Lepola, 2000)，這有可能使得落地時股骨承受比脛骨高的肌肉牽張。因此脛骨在皮質骨面積與厚度才受到影響而引起些微下降，因此也使得斷裂負荷值受損。然而，就像股骨的適應過程，待較長期的訓練後即可完整的礦化與修復而可獲得較好的骨強度。

第三節 不同期間的落地衝擊對海綿骨的影響

本研究在海綿骨組織的數據蒐集方面，分別有海綿骨的骨生成與骨吸收參數、海綿骨結構、海綿骨骨密度。有關海綿骨分析結果的討論，由於所觀察的海綿骨區域分別為股骨遠端與脛骨近端，皆為靠近於膝蓋關節之海綿骨組織，由於其受力的環境可能較為相似，結果呈現亦大致相同，在此將其一起討論。

本研究的結果指出，海綿骨的結構與骨密度需經過八週訓練才顯著高於未訓練組，而且無論是股骨或脛骨皆是相同的現象，其餘一週、二週與四週則無差異存在。由於海綿骨分佈之處緊連骨髓與血管，使得它具有相較於皮質骨快速的代謝，而且本實驗動物屬成長中的大鼠，這兩者促使海綿骨代謝旺盛，因此，在訓練初期階段（鼠齡 7~10 週）無法觀察到訓練效果，而必須待實驗動物進入較成熟（骨代謝趨緩）階段，才可在海綿骨的結構與骨密度上觀察到落地訓練的效果，由本研究結果可得知，僅有八週訓練後的這時間點，才呈現脛骨的破骨細胞數目相較於其對照組降低約 36%（圖 12）與提高鹼性磷酸酶的分佈百分比約 50%（圖 11），進一步證實上述論點。

雖然八週的落地訓練並未在股骨海綿骨組織上觀察到如脛骨海綿骨降低之破骨細胞數目，股骨海綿骨組織的鹼性磷酸酶表現仍顯示八週落地訓練提升骨生成作用（圖 11），進而促進結構與骨密度的強化。另外，相較於組織的結構參數或骨密度，細胞的作用與活性變異性較大，因而以鹼性磷酸酶或破骨細胞來代表骨生成與骨吸收作用，僅可代表動物犧牲當下或短期間的細胞作用與活性，不見得能與結構參數或骨密度的結果完全一致，只可用來輔助說明海綿骨結構與骨密度的結果。因此，股骨的破骨細胞在一週訓練後顯著減少，可能是由於落地訓練確實暫時性的抑制破骨細胞，但海綿骨的結構與骨密度並未改變，因而較難以斷定一週訓練是否具有抑制骨吸收作用的訓練效果；此外，又或者是因破骨細胞數隨年齡增加而減少，但落地訓練讓這個下降趨勢提前。

第四節 綜合討論

本研究參考先前多人的研究成果 (Baron, Tross, & Vignery, 1984; Hsieh & Silva, 2002; Tran Van et al., 1982)，以概念的方式自行繪製骨骼結構與材料特性、與骨再塑週期之間的關係圖（圖 16）。如同文獻探討曾提及，骨再塑週期是由休息期、骨吸收作用期、反轉期、骨生成作用期所組成。如圖 16 所示，休息期的骨組織若接受高衝擊動作所產生的機械性負荷後，可造成骨細胞死亡而引起破骨細胞的活化，劇烈的骨吸收作用因而啟動，促使骨骼結構與材料特性的下降。待骨吸收作用進行 2-3 天後，骨骼結構與材料特性降到低點而會轉換成反轉期，亦開始傳送訊號至造骨細胞執行骨生成作用。由於骨生成作用涵蓋骨基質形成與礦化作用，所需的骨再塑時間較長，可能在接受負荷後約 12 天才可恢復到原本的水準，經過更長的骨再塑週期，骨組織的結構與材料特性才會高於原本的程度。因此，此骨骼結構與材料特性隨著骨再塑週期的變化就類似於 J 或 U 型的曲線。

本研究以落地訓練研究其對骨骼各項參數的效應，亦發現其隨著時間序列的發展如骨再塑過程的 J 型趨勢。以股骨與脛骨的皮質骨而言，本研究以皮質骨面積、厚度、轉動慣量矩與斷裂負荷值的各時間點的兩組差異百分比，繪製出落地訓練隨著時間對皮

質骨各項參數影響的曲線圖，均呈現類似於骨再塑過程的J型趨勢（圖 17）。其中，股骨在訓練四週時的三項斷面參數似乎已達高峰，而斷裂負荷值向上攀升的趨勢則較慢呈現。此外，股骨的各項參數差異百分比之最低點出現在一週的訓練期；脛骨則發生在二週的訓練期，並且各項參數經過二週之後開始向上升。

海綿骨適應落地訓練的行為也有相同趨勢。以股骨與脛骨的海綿骨而言，本研究以海綿骨的骨量比率、厚度、數目與骨密度等四項參數的各時間點訓練組與對照組的差異百分比，加以四個時間序列繪製出落地訓練對海綿骨的影響（圖 18），無論股骨或脛骨的海綿骨，其對落地訓練的反應非常相似，初期的微幅下降後開始緩慢上升。上述結果顯示，各項骨組織參數會有適應時程上的不同，但大體上都遵循骨再塑過程的J型趨勢。本研究的主要貢獻在於：

一、在骨代謝研究領域中，本研究係首篇以運動的方式給予機械性負荷，觀察其對骨骼各項參數的效應，而結果證實本研究成功模擬骨再塑的變化。過去從事骨再塑模擬的研究是以非運動的方式給予機械性負荷，像是以手術進行下顎骨的去除 (Baron, Tross, & Vignery, 1984; Tran Van et al., 1982) 或是以機械裝置的尺骨軸壓 (Hsieh & Silva, 2002)，此類研究成果提供機械性負荷與骨再塑之間關係的基礎性資訊，而本研究除了證實上述研究的基礎性資訊外，由於是以接近人體自然的運動方式建立的落地訓練模型，給予機械性負荷的刺激，此模擬人類的高衝擊運動可提供更進一步的應用價值。

二、本研究結果的地面反作用力之數值、骨骼結構參數與材料特性，隨著訓練時間序列的推進與人類運動間具有相當的關聯性。像是 40cm 高度落下的地面反作用力之數值介於常見的運動項目的動作中（例：體操選手與籃球員），而其數值會隨著學習效果而降低。骨骼結構與材料特性亦與人類常見的運動的短期效果與長期效果而變化，都會先使組織功能下降而隨著時間上升。

三、本研究是第一篇以接近實際運動的動物實驗，成功模擬出骨骼適應外力負荷的骨再塑J型適應行為模式。同時，本研究也是第一次以更貼近人體運動模式的落地模型作出骨骼適應機械性負荷反應的研究，更具應用性。此研究的數項成果，例如時間點的建立與運動強度的設定，可供未來運動科學或醫學的研究參考。

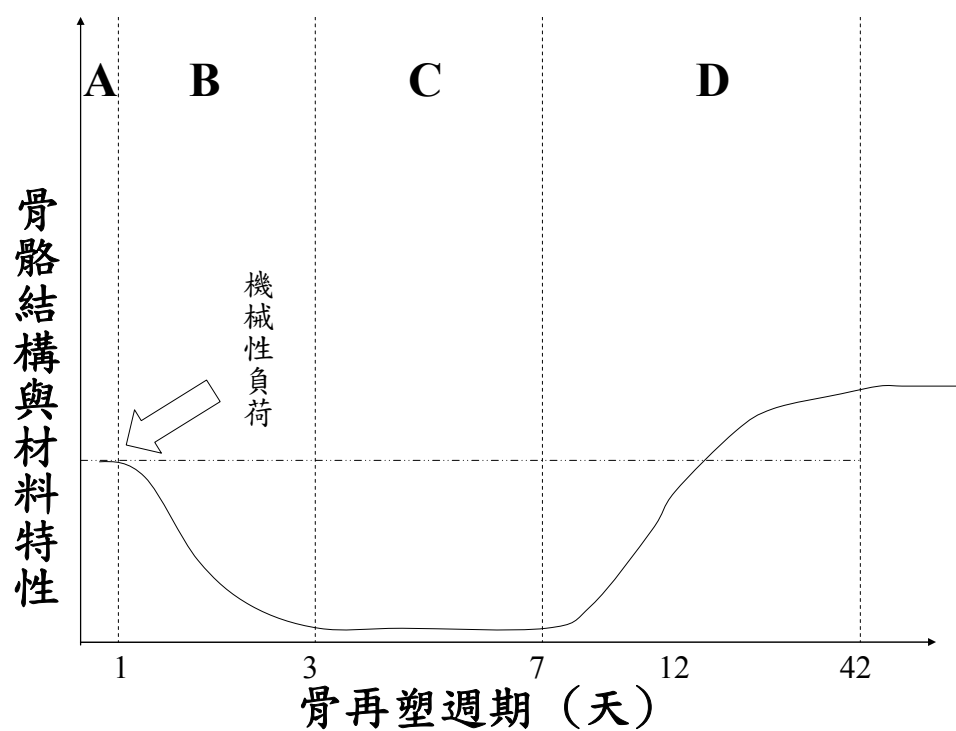


圖 16 骨再塑週期和骨骼結構與材料特性的變化示意圖

說明：A：休息期；B：骨吸收作用期；C：反轉期；D：骨生成作用期。此圖參考先前的研究 (Baron, Tross, & Vignery, 1984; Hsieh & Silva, 2002; Tran Van et al., 1982) 之概念自行繪製而成。

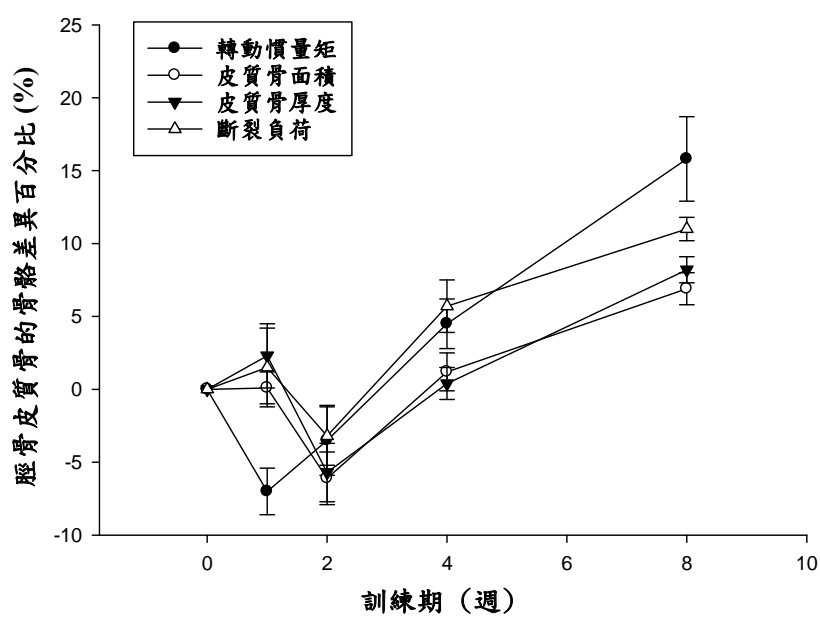
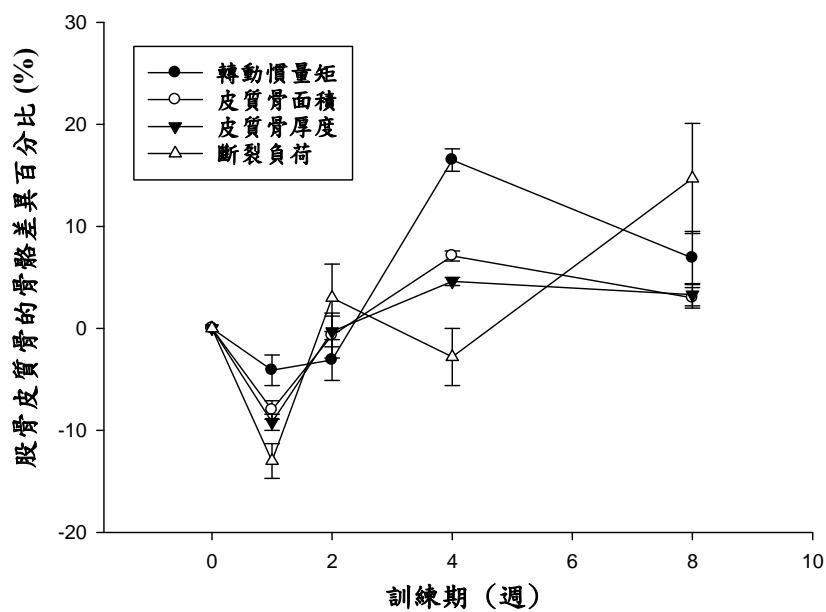


圖 17 股骨與脛骨的皮質骨對落地訓練產生的 J 型反應

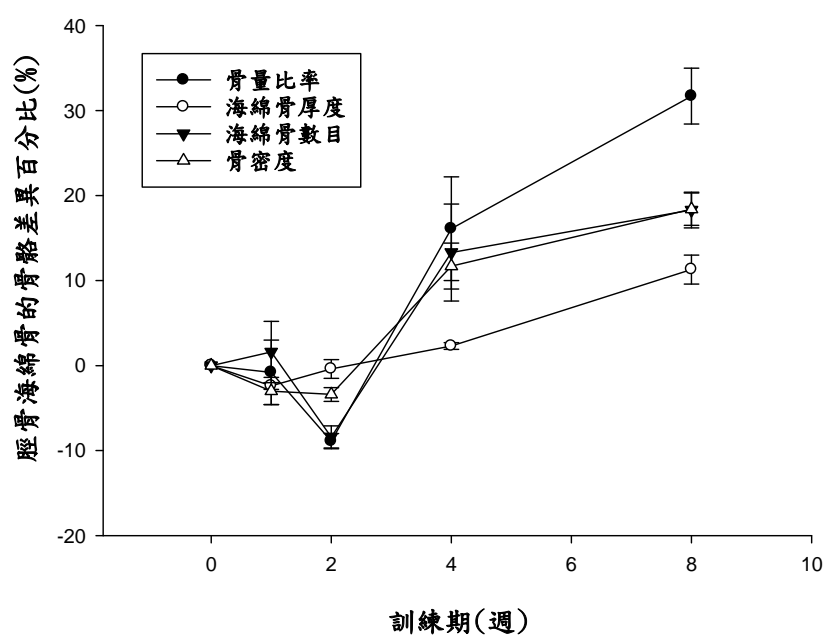
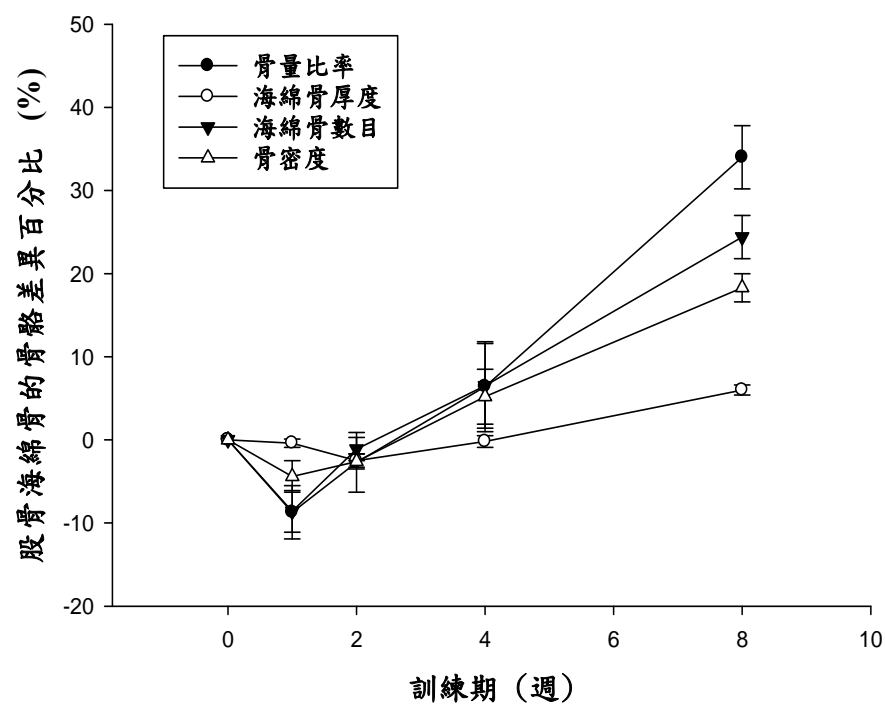


圖 18 股骨與脛骨的海綿骨對落地訓練產生的 J 型反應

第五節 結論與建議

一、結論

落地模型產生的機械性負荷對大鼠皮質骨與海綿骨引起類似但不全然一致的適應行為。皮質骨對落地衝擊會先讓骨骼受到劇烈的破壞使得骨強度減低，經過較長期的訓練才會恢復並增強，此種現象股骨表現的較脛骨明顯。海綿骨由於代謝快速，短期內較難觀察是否對落地衝擊有所反應，待進入較成熟的階段後，仍可發現落地訓練能增強海綿骨結構與密度。整體而言，八週落地訓練對成長中母鼠下肢骨組織產生不同程度及不同時程的正面助益。

二、建議

未來研究可進一步透過訓練計畫的建立（包含落地訓練的時間、頻率、次數）與休息時間的安排，配合骨骼結構與材料特性、與骨再塑週期之間的變化，將其應用在預防從事高頻率與高衝擊的年輕體操選手或其他運動選手常發生的疲勞性骨折等方面之研究。

引用文獻

- 林欣仕、王鶴森、黃滄海 (2010, 12月)。短期的落地訓練對成長中雌大鼠的骨骼材料特性之影響 [摘要]。2010 體育運動學術團體聯合年會暨學術研討會口頭發表，台北市
- Ajubi, N. E., Klein-Nulend, J., Alblas, M. J., Burger, E. H., & Nijweide, P. J. (1999). Signal transduction pathways involved in fluid flow-induced PGE2 production by cultured osteocytes. *The American Journal of Physiology*, 276(1 Pt 1), E171-178.
- Baron, R., Tross, R., & Vignery, A. (1984). Evidence of sequential remodeling in rat trabecular bone: Morphology, dynamic histomorphometry, and changes during skeletal maturation. *The Anatomical Record*, 208(1), 137-145.
- Bass, S. L., Saxon, L., Daly, R. M., Turner, C. H., Robling, A. G., Seeman, E., & Stuckey, S. (2002). The effect of mechanical loading on the size and shape of bone in pre-, peri-, and postpubertal girls: A study in tennis players. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(12), 2274-2280.
- Bouassida, A., Zalleg, D., Bouassida, S., Zaouali, M., Feki, Y., Zbidi, A., & Tabka, Z. (2006). Leptin, its implication in physical exercise and training: A short review. *Journal of Sports Science and Medicine* 5, 172-181.
- Burr, D. B., Robling, A. G., & Turner, C. H. (2002). Effects of biomechanical stress on bones in animals. *Bone*, 30(5), 781-786.
- Chen, N. X., Ryder, K. D., Pavalko, F. M., Turner, C. H., Burr, D. B., Qiu, J., & Duncan, R.L. (2000). Ca(2+) regulates fluid shear-induced cytoskeletal reorganization and gene expression in osteoblasts. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 278(5), C989-997.
- Chen, X. Y., Zhang, X. Z., Guo, Y., Li, R. X., Lin, J. J., & Wei, Y. (2008). The establishment of a mechanobiology model of bone and functional adaptation in response to mechanical loading. *Clinical Biomechanics (Bristol, Avon)*, 23 Suppl 1, S88-95.
- Clarke, B. (2008). Normal bone anatomy and physiology. *Clinical Journal of The American Society Nephrology*, 3 Suppl 3, S131-139.

- Cooper, C., Cawley, M., Bhalla, A., Egger, P., Ring, F., Morton, L., & Barker, D. (1995). Childhood growth, physical activity, and peak bone mass in women. *Journal of Bone and Mineral Research*, *10*(6), 940-947.
- Daly, R. M., Rich, P. A., Klein, R., & Bass, S. (1999). Effects of high-impact exercise on ultrasonic and biochemical indices of skeletal status: A prospective study in young male gymnasts. *Journal of Bone and Mineral Research*, *14*(7), 1222-1230.
- Ducy, P., Amling, M., Takeda, S., Priemel, M., Schilling, A. F., Beil, F. T., ... Karsenty, G. (2000). Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: A central control of bone mass. *Cell*, *100*(2), 197-207.
- Duncan, R. L., & Turner, C. H. (1995). Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcified Tissue International*, *57*(5), 344-358.
- Edwards, W. B., Ward, E. D., Meardon, S. A., & Derrick, T. R. (2009). The use of external transducers for estimating bone strain at the distal tibia during impact activity. *Journal of Biomechanical Engineering*, *131*(5), 051009.
- Finni, T., Komi, P. V., & Lepola, V. (2000). In vivo human triceps surae and quadriceps femoris muscle function in a squat jump and counter movement jump. *European Journal of Applied Physiology*, *83*(4 -5), 416-426.
- Fuchs, R. K., Bauer, J. J., & Snow, C. M. (2001). Jumping improves hip and lumbar spine bone mass in prepubescent children: A randomized controlled trial. *Journal of Bone and Mineral Research*, *16*(1), 148-156.
- Godfrey, R. J., Madgwick, Z., & Whyte, G. P. (2003). The exercise-induced growth hormone response in athletes. *Sports Medicine*, *33*(8), 599-613.
- Guadalupe-Grau, A., Fuentes, T., Guerra, B., & Calbet, J. A. (2009a). Exercise and bone mass in adults. *Sports Medicine*, *39*(6), 439-468.
- Guadalupe-Grau, A., Perez-Gomez, J., Olmedillas, H., Chavarren, J., Dorado, C., Santana, A.,...Calbet, J. A. (2009b). Strength training combined with plyometric jumps in adults: Sex differences in fat-bone axis adaptations. *Journal of Applied Physiology*, *106*(4), 1100-1111.

- Hamrick, M. W., & Ferrari, S. L. (2008). Leptin and the sympathetic connection of fat to bone. *Osteoporosis International, 19*(7), 905-912.
- Honda, A., Sogo, N., Nagasawa, S., Shimizu, T., & Umemura, Y. (2003). High-impact exercise strengthens bone in osteopenic ovariectomized rats with the same outcome as sham rats. *Journal of Applied Physiology, 95*(3), 1032-1037.
- Honda, A., Umemura, Y., & Nagasawa, S. (2001). Effect of high-impact and low-repetition training on bones in ovariectomized rats. *Journal of Bone and Mineral Research, 16*(9), 1688-1693.
- Hsieh, Y. F., & Silva, M. J. (2002). In vivo fatigue loading of the rat ulna induces both bone formation and resorption and leads to time-related changes in bone mechanical properties and density. *Journal of Orthopaedic Research, 20*(4), 764-771.
- Huang, T. H., Chang, F. L., Lin, S. C., Liu, S. H., Hsieh, S. S., & Yang, R. S. (2008b). Endurance treadmill running training benefits the biomaterial quality of bone in growing male Wistar rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism, 26*(4), 350-357.
- Huang, T. H., Lin, H. S., Chen, H. I., & Yang, R. S. (2011). The effects of systemic chemical sympathectomy on local bone loss induced by sciatic neurectomy. *Journal of Orthopaedic Science, 16*(5), 629-637.
- Huang, T. H., Lin, S. C., Chang, F. L., Hsieh, S. S., Liu, S. H., & Yang, R. S. (2003). Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone. *Journal of Applied Physiology, 95*(1), 300-307.
- Huang, T. H., Yang, R. S., Hsieh, S. S., & Liu, S. H. (2002). Effects of caffeine and exercise on the development of bone: A densitometric and histomorphometric study in young Wistar rats. *Bone, 30*(1), 293-299.
- Iwamoto, J., Takeda, T., & Sato, Y. (2005). Effect of treadmill exercise on bone mass in female rats. *Experimental Animals, 54*(1), 1-6.
- Janz, K. F., Rao, S., Baumann, H. J., & Schultz, J. L. (2003). Measuring children's vertical ground reaction forces with accelerometry during walking, running, and jumping: The Iowa Bone Development Study. *Pediatric Exercise Science, 15*(1), 34-43.

- Judex, S., & Zernicke, R. F. (2000a). Does the mechanical milieu associated with high-speed running lead to adaptive changes in diaphyseal growing bone? *Bone*, 26(2), 153-159.
- Judex, S., & Zernicke, R. F. (2000b). High-impact exercise and growing bone: Relation between high strain rates and enhanced bone formation. *Journal of Applied Physiology*, 88(6), 2183-2191.
- Kato, T., Terashima, T., Yamashita, T., Hatanaka, Y., Honda, A., & Umemura, Y. (2006). Effect of low-repetition jump training on bone mineral density in young women. *Journal of Applied Physiology*, 100(3), 839-843.
- Knothe Tate, M. L., Knothe, U., & Niederer, P. (1998). Experimental elucidation of mechanical load-induced fluid flow and its potential role in bone metabolism and functional adaptation. *The American Journal of Medical Sciences*, 316(3), 189-195.
- Lin, H. S., Huang, T. H., Mao, S. W., Tai, Y. S., Chiu, H. T., Cheng, K. Y. B., & Yang, R. S. (2011). A short-term free-fall landing enhances bone formation and bone material properties. *Journal of Mechanics in Medicine and Biology*, 11(5), 1125-1139.
- Mcclay, I. S., Robinson, J. R., Andriacchi, T. P., Frederick, E. C., Gross, T., Martin, P., ... Peter, C. (1994). A Profile of ground reaction forces in professional basketball. *Journal of Applied Biomechanics*, 10(3), 222-236.
- Miller, S. C., de Saint-Georges, L., Bowman, B. M., & Jee, W. S. (1989). Bone lining cells: Structure and function. *Scanning Microscopy*, 3(3), 953-960.
- Nagasawa, S., Honda, A., Sogo, N., & Umemura, Y. (2008). Effects of low-repetition jump exercise on osteogenic response in rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 26(3), 226-230.
- Noble, B. S., Peet, N., Stevens, H. Y., Brabbs, A., Mosley, J. R., Reilly, G. C., ... Lanyon, L. E. (2003). Mechanical loading: Biphasic osteocyte survival and targeting of osteoclasts for bone destruction in rat cortical bone. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 284(4), C934-943.
- Notomi, T., Okazaki, Y., Okimoto, N., Saitoh, S., Nakamura, T., & Suzuki, M. (2000). A comparison of resistance and aerobic training for mass, strength and turnover of bone in growing rats. *European Journal of Applied Physiology*, 83(6), 469-474.

- Notomi, T., Okazaki, Y., Okimoto, N., Tanaka, Y., Nakamura, T., & Suzuki, M. (2002). Effects of tower climbing exercise on bone mass, strength, and turnover in orchidectomized growing rats. *Journal of Applied Physiology*, 93(3), 1152-1158.
- Notomi, T., Okimoto, N., Okazaki, Y., Nakamura, T., & Suzuki, M. (2003). Tower climbing exercise started 3 months after ovariectomy recovers bone strength of the femur and lumbar vertebrae in aged osteopenic rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, 18(1), 140-149.
- Notomi, T., Okimoto, N., Okazaki, Y., Tanaka, Y., Nakamura, T., & Suzuki, M. (2001). Effects of tower climbing exercise on bone mass, strength, and turnover in growing rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, 16(1), 166-174.
- Ohashi, N., Robling, A. G., Burr, D. B., & Turner, C. H. (2002). The effects of dynamic axial loading on the rat growth plate. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(2), 284-292.
- Robling, A. G. (2009). Is bone's response to mechanical signals dominated by muscle forces? *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 41(11), 2044-2049.
- Robling, A. G., Castillo, A. B., & Turner, C. H. (2006). Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 8, 455-498.
- Rosa, B. V., Firth, E. C., Blair, H. T., Vickers, M. H., Morel, P. C., & Cockrem, J. F. (2010). Short-term voluntary exercise in the rat causes bone modeling without initiating a physiological stress response. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative Comparative Physiology*, 299(4), R1037-1043.
- Takada, H., Washino, K., Hanai, T., & Iwata, H. (1998). Response of parathyroid hormone to exercise and bone mineral density in adolescent female athletes. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 2(4), 161-166.
- Tran Van, P. T., Vignery, A., & Baron, R. (1982). Cellular kinetics of the bone remodeling sequence in the rat. *The Anatomical Record*, 202(4), 445-451.
- Turner, C. H. (1998). Three rules for bone adaptation to mechanical stimuli. *Bone*, 23(5), 399-407.

- Turner, C. H. (2006). Bone strength: Current concepts. *Annals of The New York Academy Sciences, 1068*, 429-446.
- Turner, C. H., & Burr, D. B. (1993). Basic biomechanical measurements of bone: A tutorial. *Bone, 14*(4), 595-608.
- Umemura, Y., Ishiko, T., Tsujimoto, H., Miura, H., Mokushi, N., & Suzuki, H. (1995). Effects of jump training on bone hypertrophy in young and old rats. *International Journal of Sports Medicine, 16*(6), 364-367.
- Umemura, Y., Ishiko, T., Yamauchi, T., Kurono, M., & Mashiko, S. (1997). Five jumps per day increase bone mass and breaking force in rats. *Journal of Bone and Mineral Research, 12*(9), 1480-1485.
- Umemura, Y., Nagasawa, S., Honda, A., & Singh, R. (2008). High-impact exercise frequency per week or day for osteogenic response in rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism, 26*(5), 456-460.
- Verborgt, O., Gibson, G. J., & Schaffler, M. B. (2000). Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. *Journal of Bone and Mineral Research, 15*(1), 60-67.
- Welch, J. M., Turner, C. H., Devareddy, L., Arjmandi, B. H., & Weaver, C. M. (2008). High impact exercise is more beneficial than dietary calcium for building bone strength in the growing rat skeleton. *Bone, 42*(4), 660-668.
- Welch, J. M., Weaver, C. M., & Turner, C. H. (2004). Adaptations to free-fall impact are different in the shafts and bone ends of rat forelimbs. *Journal of Applied Physiology, 97*(5), 1859-1865.
- Xiong, J., & O'Brien, C. A. (2012). Osteocyte RANKL: New insights into the control of bone remodeling. *Journal of Bone and Mineral Research, 27*(3), 499-505.

附錄

附錄一 縮寫表

(按 A→Z 排列)

ALP : alkaline phosphatase 鹼性磷酸酶

BLC : bone lining cell 骨襯裡細胞

BV/TV : bone volume/ tissue volume 骨量比率

CA : cortical bone area 皮質骨面積

Ca⁺⁺ Ch : Ca⁺⁺ channel 鈣離子通道，為生化連結通道之一

Can : canaliculae 骨小管

CSA : cross-section area 橫斷面面積

CSMI : cross-sectional moment of inertial 轉動慣量矩

CT : cortical bone thickness 皮質骨厚度

DEXA : dual-energy X-ray absorptiometry 雙能 X 光吸收儀

EDTA : ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dehydrate 脫鈣液

E to FL : energy to fracture load 骨骼斷裂所需能量

E to PY : energy to post-yield 降伏點後所能吸收的能量

E to YL : energy to yield load 達降伏點所需的能量

FL : fracture load 斷裂負荷值

GH : growth hormone 生長激素

GJ : gap junctions 胞隙接合體

GRF : ground reaction force 地面反作用力

I : integrins 此為一種整合蛋白，為生化連結通道之一

IFF : interstitial fluid flow 意指組織間液流動

IGF-1 : insulin-like growth factor-1 類胰島素生長因子 1

M : cell membrane 細胞膜

MA : bone marrow area 骨髓腔面積

N : cell nucleus 細胞核

NO : nitrogen monoxide 一氧化氮

Ob : osteoblast 造骨細胞

OP : osteoprogenitor 骨先驅細胞

OPG : osteoprotegrins 破骨細胞生長抑制因子

Ot : osteocyte 骨細胞

PGE₂ : prostaglandin2 前列腺素 2

POb : preosteoblast 造骨細胞先驅

PTH : parathyroid hormone 副甲狀腺素

RANKL : receptor activator of NFkB ligand 一種破骨細胞分泌的蛋白質

Tb.N : trabecular number 骨小樑數目

Tb.Sp : trabecular separation 骨小梁間距

Tb.Th : trabecular thickness 骨小梁厚度

TRAP : tartrate-resistant acid phosphatase 抗酒石酸鹽酸性磷酸酶

vBMD : volumetric bone mineral density (g/cm³) 體積骨密度

μCT : micro-computed tomography 微型電腦斷層掃描

YL : yield load 降伏點負荷

YM : young's modulus 楊氏係數

YS : yield stress 降伏點應力

YT : yield toughness 降伏點堅韌度

附錄二 破骨細胞的染色步驟與計算分析

(一) 染色步驟：

1. 切好的骨組織 (5-7 μ m) 放於玻片上並儲存在 4°C 冰箱。
2. 放置完成的石蠟切片於室溫中，進行組織晾乾約 15 分鐘。
3. 組織晾乾進行中可開始調配染色劑，而染色劑的調配所需藥品與溶液如下表所示，表上是以配置 1 毫升的量所給予的比例。

破骨細胞染色劑調配方法與成分

TRAP 染劑所需成分	量(μ l)	注意事項
Deionized water (37°C)	900	
Diazotized Fast Garnet GBC Solution	20	先將 10(μ l) Fast Garnet GBC Base 與 10(μ m) Sodium Nitrite Solution 混合 30 秒後，再讓其靜置 2 分鐘
Naphthol AS-BI Phosphate Solution	10	
Acetate Solution	40	
Tartrate Solution	20	

4. 待上述步驟完成時，開始進行組織脫臘 (deparaffinization) 與水合作用 (hydration)。
組織脫臘以浸泡兩次二甲苯 (Xylzene) 溶液進行，各為 10 分鐘與 5 分鐘；脫臘完成以後以漸減濃度 (100%、95%、90%、80%、70%) 酒精溶液進行水合作用，各濃度酒精溶液浸泡約 1/2 至 1 分鐘。
5. 將組織置放於去離子水 (Deionized water) 中約 5 至 10 秒。
6. 完成 5 的步驟以後，以棉花棒或拭淨紙將組織周圍的水分擦乾。
7. 將調配好的染色劑以微量試管均勻地覆蓋在組織上。再將組織放到鐵盤並將其置於 37°C 的水溫槽上，進行約 10 至 60 分鐘的染色反應。

8. 待組織呈紫紅色後 (如下圖), 以去離子水終止反應。
9. 將玻片拭乾並滴甘油 (glycerol) 於組織上以載玻片封片。

(二) 計算方法:

以 10*10 倍的顯微鏡鏡頭計算生長板下 0-3mm 處裡的海綿骨周圍的破骨細胞數目。

(三) 藥劑來源:

本研究使用的為商業包裝, 詳細資料如下: Leukocyte Acid Phosphatase kit (387A, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)



破骨細胞染色呈色圖, 以 25 倍鏡頭拍攝。

附錄三 骨骼鹼性磷酸酶的染色步驟與計算分析

(一) 染色步驟：

1. 切好的骨組織 (5-7 μ m) 放於玻片上並儲存在 4°C 冰箱。
2. 放置完成的石蠟切片於室溫中，進行組織晾乾約 15 分鐘。
3. 開始進行組織脫臘 (deparaffinization) 與水合作用 (hydration)。組織脫臘以浸泡兩次二甲苯 (Xylzene) 溶液進行，各為 10 分鐘與 5 分鐘；脫臘完成以後以漸減濃度 (100%、95%、90%、80%、70%) 酒精溶液進行水合作用，各濃度酒精溶液浸泡約 1/2 至 1 分鐘。
4. 將組織置放於去離子水 (Deionized water) 中約 5 分鐘。
5. 完成 4 的步驟以後，以棉花棒或拭淨紙將組織周圍的水分擦乾。
6. 將染色劑 (*p*-nitroblue tetrasolium chloride and 5-bromo-4-chloro-3-indolylphosphate *p*-toluidine salt) 以微量試管均勻地滴在組織上。再將組織放到鐵盤並將其置於 37°C 的水溫槽上，進行 60 分鐘的反應。呈色反應如下圖所示。
7. 待反應後以去離子水洗淨並將玻片拭乾，再滴封片膠於組織上以載玻片封片。



鹼性磷酸酶染色呈色圖，以 200 倍鏡頭拍攝。

(二)計算方法：

- 1.架設相機於 20*10 倍的顯微鏡鏡頭上，拍取靠近皮質骨處的次級海綿骨區兩張，。
- 2.以影像分析軟體計算海綿骨的原始周長與鹼性磷酸酶表現的周長。
- 3.再以 $(\text{酵素表現的周長}/\text{原始周長}) * 100$ 的公式算出鹼性磷酸酶的表現百分比。

(三)藥劑來源

本研究使用的為 100ml 商用包裝，詳細資料如下：(BCIP-NBT Liquid Substrate System (B1911, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA))

附錄四 落地訓練的過程圖示



將大鼠提高至 40 公分之高度後，鬆手使其以自由落體的方式著地（側面）。



將大鼠提高至 40 公分之高度後，鬆手使其以自由落體的方式著地（垂直面）。

附錄五 動物實驗同意書

100 版

國立成功大學實驗動物照護與使用委員會審查同意書 Affidavit of Approval of Animal Use Protocol National Cheng Kung University

同意書編號(IACUC Approval No): 101166

計畫申請人：黃滄海、張明熙 職 稱：副教授、教授

單 位：體育健康與休閒研究所 飼養及應用地點：成大動物中心

計畫名稱：不同落地訓練時期對成長中母鼠的骨代謝影響

本「動物實驗計畫書」業經實驗動物照護與使用委員會 實質 形式審查通過。本計畫預定飼養應用之動物如下：

動物種類	動物數量/計畫年限	飼養及應用期間
Rat/Wistar	72 隻/半年	101年1月1日至101年7月31日

The animal use protocol listed below has been reviewed and approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC).

Protocol Title: **Effect of Free-fall Landing Training in Different Training Periods on Bone Metabolism: An Animal Study in Growing Female Rats**

Period of Protocol: Valid From: 01/01/2012 To: 07/31/2012 (mm/dd/yyyy)

Principle Investigator (PI): Tsang-Hai Huang & Ming-Shi Chang

實驗動物照護與使用委員會召集人：  日期：100.12.26

IACUC Chairman: Charles CH Lin Date: 12.26.2011



100 版

核准編號

101166

動物實驗申請表

一、申請人名稱：黃滄海、張明熙 職稱：副教授、教授 單位：體健休所、生化所

二、實驗地點：成大動物中心 送件聯絡人及電話：林欣仕、50394 (必填，學生或助理)

三、計畫/課程/試驗名稱：不同落地訓練時期對成長中母鼠的骨代謝影響
 類別：(請就以下項目填寫) 醫學研究類 藥物及疫苗類 健康食品類 農作物研究類
 教學訓練類、 其他類別()

四、經費來源：國科會

五、執行期限：101年1月 至 101年7月 (請填寫起訖年月)

六、負責進行動物實驗之相關人員資料：

	姓名	職稱	參與實驗期限	參與動物實驗年數 / 實驗技術經驗
(一)	黃滄海	副教授	101/1-101/7	>10年/動物卵巢切除、坐骨神經切除術
(二)	林欣仕	研究生	101/1-101/7	5年/動物卵巢切除、坐骨神經切除術
(三)	梁詠喻	研究生	101/1-101/7	1年/動物犧牲、骨骼樣本收集
(四)	林庭瑜	研究生	101/1-101/7	1年/動物犧牲、骨骼樣本收集
(五)	蘇亦秀	研究生	101/1-101/7	待訓練
(六)	蔡欣蓉	研究生	101/1-101/7	待訓練

七、實驗所需之動物：

動物別/品系 ^a	使用數量/計畫年限	動物來源 ^b	動物飼養場所
(一) Rat/Wistar	72/半年	成大動物中心	成大動物中心

註 a：保育類野生動物請加註，並另依野生動物保育法相關規定辦理。

註 b：自野外捕捉之動物請加註，並另說明來源地區、隔離檢疫方式及隔離期間；取自民間市場者，必要時須比照辦理。

八、如飼養場所不是動物中心時，請說明飼養場所之設備與飼養管理措施。若是託養於所屬機構之外的場所，原則上須提供該場所經核准營業之證明文件。

九、動物飼養： 由動物中心專人負責 由實驗室人員負責 由託養場所負責
 如由實驗室人員負責，請說明其對動物飼養之背景與訓練。

- 1、進行危險物品實驗施用之方法、途徑及場所。
- 2、針對實驗人員、實驗動物以及周邊人畜環境所採行之保護措施。
- 3、實驗廢棄物與屍體之處理方式。

(三) 如屬放射線或毒性化學危險實驗，請說明本案向主管機關之申請狀況：

(放射線物質實驗須經行政院原子能委員會認可；毒性化學實驗須經行政院環境保護署認可。)

- 尚未申請。
- 已申請，審核中。
- 通過認可，

使用危險物質之認可證件名稱與證號_____

使用危險物質人員之認可證件名稱與證號_____

申請人保證以上所填資料完全屬實，
並確認此申請案之執行與運作符合「動物保護法」及相關法規之規定。

申請人簽名 黃滄海 林明 日期 100.12.16
單位主管簽名 林長 日期 12.16

初審結果

- 照案通過
- 應改善後複審
- 不通過

須改善或不通過之審查意見：

評審人簽章 國立成功大學 實驗動物照護與使用委員會 日期 100.12.26

實驗動物照護與使用委員會召集人簽章 國立成功大學 實驗動物照護與使用委員會 日期 100.12.26

核准編號 **1101166**
使用年限至 101-01
101-07

複審結果

- 照案通過
- 應改善後複審
- 不通過

須改善或不通過之審查意見：

評審人簽章 _____ 日期 _____

實驗動物照護與使用委員會召集人簽章 _____ 日期 _____

原核准編號
※(申請人自填)

101166

動物實驗申請表修正申請單

一、申請人名稱：黃滄海 職稱：副教授 聯絡人及電話：林欣仕 50394

二、單位：體育健康與休閒研究所 實驗地點：動物中心

三、計畫/課程/試驗名稱：不同落地訓練時期對成長中母鼠的骨代謝影響

類別：醫學研究類 藥物及疫苗類 健康食品類 農業研究類 教學訓練類 其他

四、上項動物實驗計劃需要做下列的修正：(※請申請人檢附原已核准過之申請文件)

(如果計劃主持人或計劃名稱變更，則需重新填寫一份動物實驗申請表，請勿填寫此表)

1. 進行動物實驗之執行期限變更：

無

2. 實驗中所需動物變更(請說明所需更改之品種、數量及理由)：

無

3. 研究計劃所進行之動物實驗之內容、方法、劑量與步驟之變更(含動物固定、注射麻醉、手術及術後照顧等)：

本研究請求將原本使用的麻醉劑 Ketamine 與 xylazine，更改為由台灣維克所代理的舒泰 50。

4. 其他變更：

申請人保證以上所填資料完全屬實，並確認此申請案之執行與運作符合「動物保護法」及相關法規之規定。

申請人簽名 黃滄海 日期 101.3.26 單位主管簽名 林義明 日期 3/26

審查結果

照案通過

不通過，原因 國立成功大學 2 實驗動物照護與使用委員會

評審人簽章 _____ 日期 101.3.27

實驗動物照護與使用委員會召集人簽章 醫學院院長和信 日期 101.3.27

原核准編號
※(申請人自填)

101166

ok

動物實驗申請表修正申請單

一、申請人名稱：黃滄海 職稱：副教授 聯絡人及電話：林欣仕 50394

二、單位：體育健康與休閒研究所 實驗地點：動物中心

三、計畫/課程/試驗名稱：不同落地訓練時期對成長中母鼠的骨代謝影響

類別：醫學研究類 藥物及疫苗類 健康食品類 農業研究類 教學訓練類 其他

四、上項動物實驗計劃需要做下列的修正：(※請申請人檢附原已核准過之申請文件)

(如果計劃主持人或計劃名稱變更，則需重新填寫一份動物實驗申請表，請勿填寫此表)

1. 進行動物實驗之執行期限變更：

無

2. 實驗中所需動物變更(請說明所需更改之品種、數量及理由)：

由於研究觀察變項而需要增設組別，動物所需數量得由 72 隻修改為 120 隻

3. 研究計劃所進行之動物實驗之內容、方法、劑量與步驟之變更(含動物固定、注射麻醉、手術及術後照顧等)：

無

4. 其他變更：

申請人保證以上所填資料完全屬實，並確認此申請案之執行與運作符合「動物保護法」及相關法規之規定。

申請人簽名 黃滄海 日期 101.1.4 單位主管簽名 林欣仕 日期 101.1.4

審查結果

照案通過

不通過，原因

評審人簽章 國立成功大學 2 實驗動物照護與使用委員會 日期 101.1.9

實驗動物照護與使用委員會召集人簽章 黃滄海 日期 101.1.9



個人小傳

姓名	林欣仕 (Lin, Hsin-Shih)	
出生地	台灣 宜蘭	
生日	73 年 01 月 11 日	
e-mail	n73111@hotmail.com	
學 歷		
國立台灣師範大學 體育學系 博士班 運動科學組		97.9-101.8
國立成功大學 體育健康與休閒研究所 碩士班		95.9-97.6
國立成功大學 中國文學系 (保送甄試入學)		91.9-95.6
國立宜蘭高中 體育班		89.9-91.6
經 歷		
國立成功大學 體育健康與休閒研究所 兼任助理		99.8-101.7
國立成功大學 男子籃球隊 助理教練		98.7-100.6
國立成功大學 男子籃球隊 球員		91.9-97.6
國立宜蘭高中 男子籃球隊 球員		89.9-91.6
重要運動競賽成績		
中華民國大專院校九十一學年度籃球聯賽	男生第一級	第十名
九十學年度中等學校籃球聯賽 (獲大學保送甄試資格)	高中男子甲組	第四名

重要著作

Huang, T.H., **Lin, H.S.**, Chen, H.I., Yang, R.S. (2011). The effects of systemically chemical sympathectomy on local bone Loss induced by sciatic neurectomy. *Journal of Orthopaedic Science*, 16(5): 629-637. 【SCI】

Lin, H. S., Huang, T. H., Mao, S. W., Tai, Y. S., Chiu, H. T., Cheng, K. Y. B., Yang, R. S. (2011). A short-term free-fall landing enhances bone formation and bone material properties. *Journal of Mechanics in Medicine and Biology*, 11(5): 1125-1139. 【SCI】