

# 科技部補助

## 大專學生研究計畫研究成果報告

\* \*\*\*\*\*  
\* 計畫名稱：以田七活性成分預防高能量 LED 可見光照明所造成小鼠眼底視網膜中央血管內徑窄化之評估  
\* \*\*\*\*\*

執行計畫學生： 林佳蓉  
學生計畫編號： MOST 105-2815-C-040-014-B  
研究期間： 105 年 07 月 01 日至 106 年 02 月 28 日止，計 8 個月  
指導教授： 陳伯易

處理方式： 本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2 年後可公開查詢

執行單位： 中山醫學大學視光學系(所)

中華民國 106 年 03 月 13 日

# 以田七活性成分預防高能量 LED 可見光照明所造成小鼠眼底視網膜中央血管內徑窄化之評估

學生：林佳蓉 (Jia-Rung Lin)

指導教授：陳伯易副教授 (Bo-Yie Chen)

## 一、摘要

高能量 LED 可見光照明近年來更大量用於日常生活環境中，對於視覺與生理的影響受國際生物醫學的關注。根據之前所做的小鼠研究，我們實驗已觀察到經曝曬高能量 LED 可見光照明一段時間後會造成眼底視網膜中央血管內徑窄化的問題。然而，視網膜血管的窄化與視覺退化性疾病的病程發展有密切的關係，視網膜血管的窄化容易造成血氧供應不足，引起視網膜或視神經缺血性損傷 (Ischemic lesion) 問題，臨床上是黃斑部退化 (Macular degeneration) 和青光眼疾病 (Glaucoma) 發展的源頭。田七 (Panax notoginseng; PNG) 是傳統中醫藥的藥材，已證實具有多種功效並且被廣泛使用。藥典指出田七具有擴張血管、補血養血的作用，因此本計畫嘗試性的試驗用以來「預防」或「改善」眼底視網膜中央血管內徑窄化的問題。實驗方法採取高能量 LED 可見光照明誘導小鼠視覺退化模式來進行驗證，將小鼠置於 600~1000 Lux 之間的環境照度下，隨後將小鼠分為(1)正常對照組(Blank control group)、(2)照光對照組(LED group)、(3)田七活性成分組(LED + PNG group)。以眼底影像分析系統採取動追蹤的方式比較三組小鼠眼底視網膜中央血管的變化過程，實驗探討分析田七活性成分能否預防高能量 LED 可見光照明所造成小鼠眼底視網膜中央血管內徑窄化。

**關鍵字：**田七、眼底血管窄化、視網膜損傷、高能量 LED 可見光

## 二、研究動機與研究問題

- 計畫實驗動機：**我們實驗室的研究指出高能量 LED 可見光照明會對小鼠的視網膜造成傷害。目前高能量 LED 可見光照明的使用範圍越來越廣，甚至已經到和我們的生活密不可分的地步。常用的日常生活照度介於 600~1000 Lux 之間，因此我們以小鼠模式模擬人類日常生活環境所需的光照度，當小鼠置於此環境照度下的第 45 天，觀察發現小鼠眼底視網膜中央血管 (Central retinal vessels) 之內徑有窄化的現象。視網膜血管的窄化與視覺退化性疾病的病程發展有密切的關係，視網膜血管的窄化容易造成血氧供應不足，引起視網膜或視神經缺血性損傷 (Ischemic lesion) 問題，臨床上是黃斑部退化 (Macular degeneration) 和青光眼疾病 (Glaucoma) 發展的源頭 (1,2,21)。
- 本計畫的目標與方法：**以眼底影像分析系統採取動追蹤的方法，分析小鼠眼底視網膜中央血管的變化過程與病理變化程度。並且以口服餵食的方法，給予田七活性萃取物 (PNG) 用以探討預防的效果。
- 待研究與釐清的問題：**藉由田七活性萃取物(PNG)的處理，以小鼠活體模式進行眼底視網膜觀察，探討是否可「預防」視網膜血管窄化的效果？

### 三、文獻回顧與探討

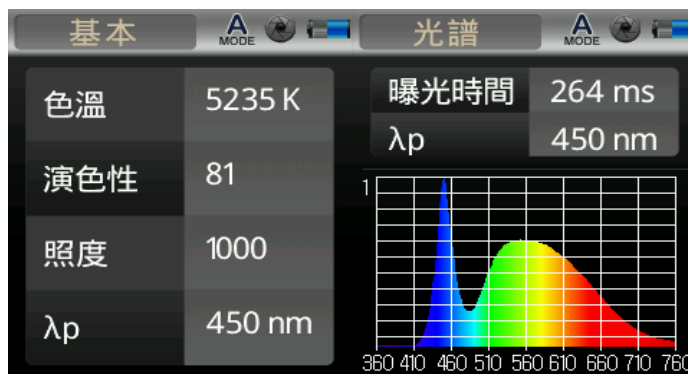
#### 1. LED

發光二極體 (LED) ，為一種能發光的半導體電子元件，是三價(鋁 Al、鎵 Ga、銦 In 等)與五價(氮 N、磷 P、砷 As 等)的化學元素去組成的複合光源<sup>(3)</sup>。LED 是利用電能轉化為光能的原理，在半導體內的正負兩端施加電壓，當電流通過，使電子與電洞互相結合，剩餘的能量就會以光的形式釋放，依照使用材料的不同，其能階的高低會使光子在釋放能量時產生不同波長的光<sup>(4)</sup>。LED 本身是單色光源，而自然界的白光則是包括了各種顏色，所以目前一般市面上常見的白光 LED 是透過發出三原色的單色光(紅、綠、藍)或以藍光 LED 激發外層的螢光粉以放出中、長波長的紅、綠色光，使整體含有三原色的光譜，刺激人眼的感光細胞，使我們有看見白光的感覺<sup>(3)</sup>。

(資料來源：維基百科，自由的百科全書-發光二極體)

(資料來源：Twe-commerce)

以下為本實驗室所測出來的 LED 照明之光譜波形圖。



#### 2. 視網膜中央血管動靜脈(The central retinal artery and vein)

由頸內動脈 (Internal carotid artery) 分支出眼動脈 (Ophthalmic artery) ，然後眼動脈再分支出三條主要血管通往眼窩，其中一條即為視網膜中央動脈 (Central artery of retinal)。視網膜中央動脈的路徑在視神經 (Optic nerve) 的下方，直到它貫穿眼睛後後方 10mm~15mm 的硬膜 (Dural) 與蜘蛛膜 (Arachnoid) ，然後視網膜中央動脈朝著視神經的中心彎曲(如下圖 1)<sup>(6)</sup>。當視網膜中央動脈動脈穿過視神經盤 (Optic disc) 進入視網膜後，先分為上、下兩支，隨後再分為視網膜鼻側上、下動脈和視網膜顳側上、下動脈(如下圖 2)<sup>(5)</sup>。視網膜中央動脈供給養分給神經節細胞和雙極細胞。視網膜中央靜脈的直徑比視網膜中央動脈的直徑大，上、下分支的靜脈接合在篩板 (Lamina cribrosa) 附近形成視網膜中央靜脈，視網膜中央靜脈貫穿硬膜動脈的後方，而流入上眼靜脈 (Ophthalmic vein) 或海綿體靜脈竇(Cavernous sinus)<sup>(6)</sup>。

(資料來源：眼動脈- 健康 wiki - 有健康網)

(資料來源：眼球解剖與生理學-合計圖書出版社 2004 出版)

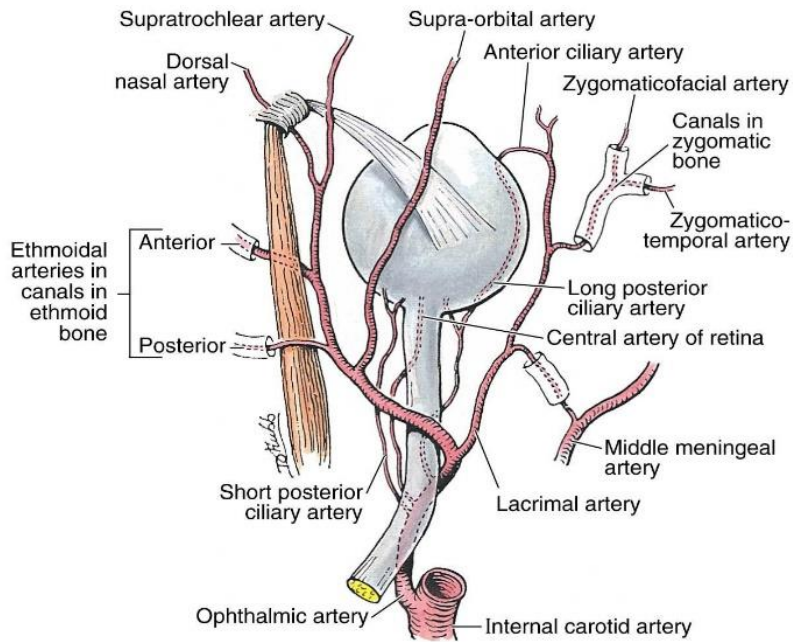


圖 1 (圖片來源：Study Blue)

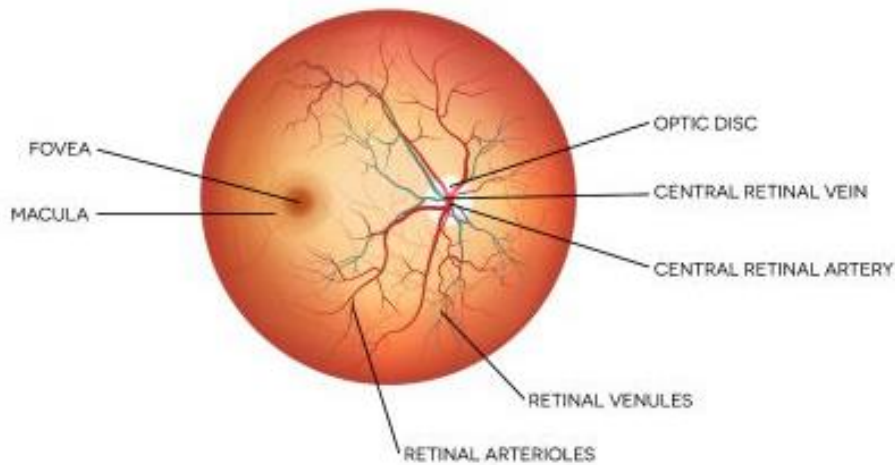


圖 2 (圖片來源：ThromboGenics NV)

### 3. 田七：

根據維基百科記載，說明田七 (*Panax notoginseng*) 是「五加科、人蔘屬的多年生草本植物(如下圖 3、4)，以根入藥，性溫，味甘微苦，入肝、胃、大腸經，又稱三七、蔘三七、土三七、血山草、六月淋、蠟子草，主要產地在中國的雲南及廣西」<sup>(7,8,9)</sup>。

許多文獻資料指出田七包含有預防多種心血管疾病<sup>(10,16)</sup>、促進血管生成<sup>(10)</sup>、增加血液循環<sup>(10)</sup>、保護腦神經系統<sup>(11)</sup>、抗發炎<sup>(12)</sup>、增強抗腫瘤效果<sup>(13)</sup>、擴張血管<sup>(14)</sup>、活血化癥<sup>(15)</sup>、抗衰老<sup>(17)</sup>、抗阿茲海默症<sup>(18)</sup>、提高學習和記憶能力<sup>(19)</sup>等作用。

因田七具有活血化癥與擴張血管的功效，故我們選用田七活性萃取物去探討其是否能夠預防高能量 LED 可見光照明所造成視網膜中央血管窄化問題。

(資料來源：三七 Sanqi 藥用植物圖像資料庫)

(資料來源：維基百科，自由的百科全書-三七)

(資料來源：草藥集-三七)



圖 3(圖片來源：買三七 MAISANQI.com)



圖 4(圖片來源：買三七 MAISANQI.com)

#### 四、研究方法與步驟

##### 1. 實驗材料：

- (1) ICR 品系母鼠
- (2) LED 燈
- (3) 田七活性成分
- (4) 餵食針
- (5) 相機
- (6) 散瞳劑
- (7) 筆記型電腦
- (8) 麻醉藥

## 2. 動物實驗組別：

本實驗採用週齡九週大的 ICR 品系母鼠，分為對照組和實驗組共三組，並給予小鼠正常飲水及飼料的供應，實驗流程如下圖 5。

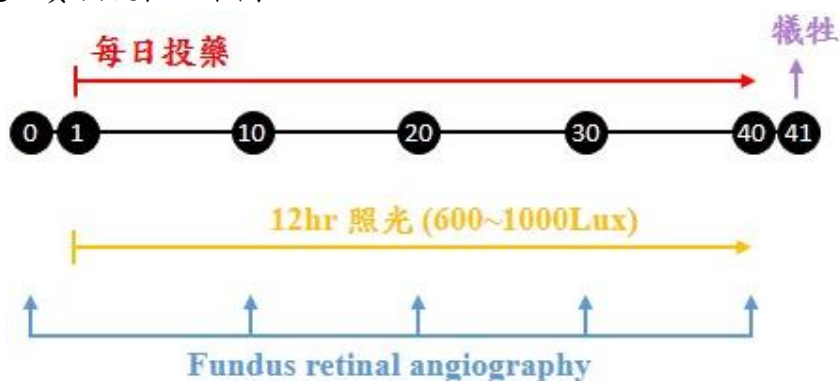


圖 5

### (1) 正常對照組(Blank control group)：

在正常的環境下，給予足夠的飼料和水，無高能量 LED 可見光照射。於 Day0、Day10、Day20、Day30、Day40 做小鼠眼底視網膜影像動態評估(Fundus Retinal Angiography)，然後於 Day41 犧牲。

### (2) 照光對照組 (LED group)(Bright 600~1000Lux )(12hr-on/12hr-off)：

小鼠從 Day1 開始至 Day40，每天早上 8 點照光(600~1000 Lux)至晚上 8 點，然後移除光源。於 Day0、Day10、Day20、Day30、Day40 做小鼠眼底視網膜影像動態評估(Fundus Retinal Angiography)，之後於 Day41 犧牲。

### (3) 田七活性成分組 (LED + PNG group)：

小鼠從 Day1 開始至 Day40，每天早上 8 點照光(600~1000 Lux)至晚上 8 點，然後移除光源，並在每天早晚餵田七活性成分。於 Day0、Day10、Day20、Day30、Day40 做小鼠眼底視網膜影像動態評估(Fundus Retinal Angiography)，然後於 Day41 犧牲。

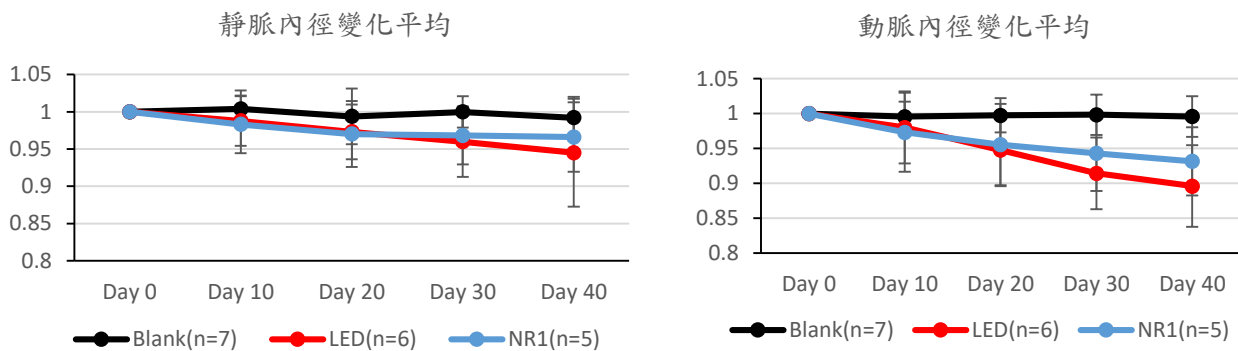
## 3. 小鼠眼底視網膜影像動態評估(Fundus Retinal Angiography)：

先將小鼠麻醉後，點入散瞳劑，等待瞳孔散開後固定小鼠，然後用本實驗室自行建構之眼底拍照系統拍攝小鼠眼底影像，拍攝完畢後將影像傳至電腦做分析。

## 五、結果與討論

1. 根據實驗結果，和空白對照組 (Blank) 相比 LED 光照組的小鼠眼底視網膜中央血管內徑從 Day 10 開始出現變化，顯示照射 LED 對小鼠眼底視網膜中央血管可能造成負面的影響。光照實驗週期中，我們觀察到小鼠眼底視網膜中央血管內徑窄化現象持續發生。由下列曲線圖可知，田七活性成分組 (LED + PNG group) 與照光對照組 (LED group) 在接受高能量 LED 可見光照明下，小鼠眼底視網膜中央血管內徑都出現變化的風險，但在 Day40 時可看出餵食田七活性成分組 (LED + PNG group) 的小鼠眼底視網膜中央血管內徑變化之程度較照光對照組 (LED group) 的小鼠低。

2. 由實驗結果可看出在高能量 LED 可見光照明模式下，田七活性成分有降低小鼠眼底視網膜中央血管內徑變化風險的可能性，因此我們以 SPSS 22 系統分析，與空白對照組 (Blank) 相比，田七活性成分組 (LED + PNG group) 及照光對照組 (LED group) 的小鼠眼底視網膜中央血管內徑變化現象在各組的表現之間並無顯著差異。
3. 從實驗結果中可看出，在高能量 LED 可見光照明模式下，小鼠眼底視網膜中央血管內徑的變化趨勢動脈較靜脈明顯，而本實驗的設計主要以追蹤主要血管為主，建議未來可採用眼底螢光攝影的方式去追蹤分析，以驗證田七活性成分在減緩高能量 LED 可見光照明所造成小鼠眼底視網膜微血管內徑變化之效果。
4. 本實驗是根據日常生活 LED 可見光的照度設計，在慢性光損傷的實驗模式下，小鼠眼底視網膜中央血管內徑變化我們主要以趨勢性來探討。在本實驗設計中，雖然統計數據的結果未達顯著性，但已能證明本定量系統之實用性與穩定性，若能對應到其他實驗設計方式下執行，有機會能作為輔助驗證血管內徑變化的分析模式之一。



## 六、結論

1. 根據實驗結果，高能量 LED 可見光會對小鼠眼底視網膜中央血管造成一定程度的傷害，在沒有投藥的狀況下，小鼠眼底視網膜中央血管在光照過程中無法自行恢復，若餵食小鼠田七活性成分(PNG)，藉由眼底視網膜血管定量系統分析可看出田七活性成分(PNG)有降低小鼠眼底視網膜中央血管變化風險的趨勢。
2. 透過眼底視網膜定量系統分析，餵食田七活性成分(PNG)有降低高能量 LED 可見光對眼底血管造成的變化的風險。需要進一步利用組織病理性定量分析驗證田七活性成分(PNG)有預防視網膜血管退化的機會。

## 七、參考文獻

1. Huang H, Shen J, Vinore SA. Blockade of VEGFR1 and 2 suppresses pathological angiogenesis and vascular leakage in the eye. PLoS One. 2011;6(6):e21411. doi: 10.1371/journal.pone.0021411. Epub 2011 Jun 22.
2. Kovacs K, Marra KV, Yu G, Wagley S, Ma J, Teague GC, Nandakumar N, Lashkari K, Arroyo JG. Angiogenic and Inflammatory Vitreous Biomarkers Associated With Increasing Levels of

Retinal Ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015 Oct;56(11):6523-30. doi: 10.1167/iovs.15-16793.

3. 資料來源：維基百科，自由的百科全書-發光二極體
4. 資料來源：Twe-commerce
5. 資料來源：眼動脈- 健康 wiki - 有健康網
6. 資料來源：眼球解剖與生理學-合計圖書出版社 2004 出版
7. 資料來源：三七 Sanqi 藥用植物圖像資料庫
8. 資料來源：維基百科，自由的百科全書-三七
9. 資料來源：草藥集-三七
10. Yang BR, Cheung KK, Zhou X, Xie RF, Cheng PP, Wu S, Zhou ZY, Tang JY, Hoi PM, Wang YH, Lee SM. Amelioration of acute myocardial infarction by saponins from flower buds of *Panax notoginseng* via pro-angiogenesis and anti-apoptosis. *J Ethnopharmacol.* 2016 Jan 19. pii: S0378-8741(16)30024-1. doi: 10.1016/j.jep.2016.01.022.
11. Gu B, Nakamichi N, Zhang WS, Nakamura Y, Kambe Y, Fukumori R, Takuma K, Yamada K, Takarada T, Taniura H, Yoneda Y. Possible protection by notoginsenoside R1 against glutamate neurotoxicity mediated by N-methyl-D-aspartate receptors composed of an NR1/NR2B subunit assembly. *J Neurosci Res.* 2009 Jul;87(9):2145-56. doi: 10.1002/jnr.22021.
12. Wang N, Wan JB, Chan SW, Deng YH, Yu N, Zhang QW, Wang YT, Lee SM. Comparative study on saponin fractions from *Panax notoginseng* inhibiting inflammation-induced endothelial adhesion molecule expression and monocyte adhesion. *Chin Med.* 2011 Oct 13;6:37. doi: 10.1186/1749-8546-6-37.
13. He F, Ding Y, Liang C, Song SB, Dou DQ, Song GY, Kim YH. Antitumor effects of dammarane-type saponins from steamed *Notoginseng*. *Pharmacogn Mag.* 2014 Jul;10(39):314-7. doi: 10.4103/0973-1296.137372.
14. Pan C, Huo Y, An X, Singh G, Chen M, Yang Z, Pu J, Li J. *Panax notoginseng* and its components decreased hypertension via stimulation of endothelial-dependent vessel dilatation. *Vascul Pharmacol.* 2012 Mar-Apr;56(3-4):150-8. doi: 10.1016/j.vph.2011.12.006. Epub 2012 Jan 3.
15. Li CT, Wang HB, Xu BJ. A comparative study on anticoagulant activities of three Chinese herbal medicines from the genus *Panax* and anticoagulant activities of ginsenosides Rg1 and Rg2. *Pharm Biol.* 2013 Aug;51(8):1077-80. doi: 10.3109/13880209.2013.775164. Epub 2013 Jun 6.
16. Sheng S, Wang Y, Long C, Su W, Rong X. Chinese medicinal formula Fufang Xueshuantong capsule could inhibit the activity of angiotensin converting enzyme. *Biotechnol Biotechnol Equip.* 2014 Mar 4;28(2):322-326. Epub 2014 Jul 18.
17. XiYang YB, Wang YC, Zhao Y, Ru J, Lu BT, Zhang YN, Wang NC, Hu WY, Liu J, Yang JW, Wang ZJ, Hao CG, Feng ZT, Xiao ZC, Dong W, Quan XZ, Zhang LF, Wang TH. Sodium Channel Voltage-Gated Beta 2 Plays a Vital Role in Brain Aging Associated with Synaptic Plasticity and Expression of COX5A and FGF-2. *Mol Neurobiol.* 2015 Jan 10.
18. Huang J, Wu D, Wang J, Li F, Lu L, Gao Y, Zhong Z. Effects of *Panax notoginseng* saponin on



$\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$  secretase involved in A $\beta$  deposition in SAMP8 mice. *Neuroreport*. 2014 Jan 22;25(2):89-93.

19. Zhong ZG, Lv L, Chai LM, Wu DP, Zhang WY, Huang JL, Gang YW, Li F, Zu B. Effect of *Panax notoginseng* saponins on APP gene transcription in the brain tissue of SAMP8. *Zhong Yao Cai*. 2011 Jan;34(1):77-80.
20. Ferrara N. Pathways mediating VEGF-independent tumor angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2010 Feb;21(1):21-6. doi: 10.1016/j.cytogfr.2009.11.003. Epub 2009 Dec 11.
21. Sarraf D, Rahimy E, Fawzi AA, Sohn E, Barbazetto I, Zacks DN, Mittra RA, Klancnik JM Jr, Mrejen S, Goldberg NR, Beardsley R, Sorenson JA, Freund KB. Paracentral acute middle maculopathy: a new variant of acute macular neuroretinopathy associated with retinal capillary ischemia. *JAMA Ophthalmol*. 2013 Oct;131(10):1275-87.