



計畫編號：DOH94-TD-F-113-021

行政院衛生署九十四年度科技研究計畫

山藥對切除卵巢之雌鼠的骨密度及機械特性之功效

Effects of Dioscorea on Bone Density and Mechanical Properties in
the Ovariectomized Rats

研究報告

執行機構：中山醫學大學

計畫主持人：陳建宏

研究人員：何應瑞、李永康、林孝哲、張白容、黃美鳳、蔡佩君

執行期間：94年1月26日至94年12月31日

*本研究報告僅供參考，不代表本署意見，依合約之規定：如對
媒體發布研究成果應事先徵求本署同意*

目 錄

頁次

目次.....	(2)
圖次.....	(3)
表次.....	(4)
中文摘要.....	(5)
英文摘要.....	(6)
本文.....	(7)
前言.....	(7)
材料與方法.....	(14)
結果.....	(25)
討論.....	(29)
結論與建議.....	(37)
九十四年度計畫重要研究成果及對衛生署之具體建議.....	(38)
參考文獻.....	(39)

圖 次

圖一	實驗動物之分組方式.....	(15)
圖二	實驗鼠之股骨型態.....	(17)
圖三	股骨體積之測量程序.....	(19)
圖四	材料試驗機.....	(21)
圖五	三點彎曲壓縮試驗測試台.....	(22)
圖六	股骨三點彎曲壓縮示意圖.....	(22)
圖七	三點彎曲壓縮試驗之力量-位移曲線圖.....	(23)
圖八	山藥攝取量對孔隙率之影響.....	(30)
圖九	山藥攝取量對骨密度之影響.....	(31)
圖十	山藥攝取量對股骨固體支架密度之影響.....	(32)
圖十一	山藥攝取量對股骨勁度之影響.....	(33)
圖十二	山藥攝取量對股骨斷裂能量之影響.....	(34)
圖十三	山藥攝取量對股骨斷裂極限力之影響.....	(36)

表 次

表一 控制組(未切除卵巢)之骨骼特性.....(25)

表二 實驗組(切除卵巢)之骨骼特性.....(27)

摘要

本計畫係觀察山藥對切除卵巢之雌鼠的骨密度及機械特性之功效。以 102 隻雌性 Wistar 大鼠為實驗動物，將大鼠隨機分配為實驗組及對照組；其中，實驗組內的 68 隻大鼠之卵巢均切除，其餘 34 隻為控制組，接受假手術但保持卵巢完整。手術後使其恢復四周，再以開放空間及高腳十字迷宮之試驗結果，將具有不同焦慮程度之實驗鼠均勻分配於四組(對照組為三組)，餵食不同的山藥劑量。持續四周後將動物犧牲並取下兩側股骨。其中右側股骨進行相關之孔隙率、骨固體支架密度、及骨密度等物理參數測量及計算，左側股骨則進行材料試驗(包括彎曲勁度、極限力、及斷裂能量)。研究發現，在物性的表現上，適當山藥的攝取量具有降低骨骼孔隙率之功效趨勢。在機械特性方面，其相對的力學特性亦相對提升。適當的攝取量約為每公斤體重每天 250~500 mg 山藥粉末，但不建議過量食用。

關鍵詞：山藥、骨密度、機械特性

ABSTRACT

The aim of this study was to observe the effects of Dioscorea on bone density and mechanical properties in the ovariectomized rats. One hundred and two female wistar rats were used as experimental animals in this study. They were randomly divided into two groups. In the experimental group, sixty eight rats were all ovariectomized. The controlled group contained 34 rats which accepted sham operation, and their ovaries were kept intact. After 4 weeks recovery, according to the anxiety and depression degree when passing through an open space and an elevated plus-maze, rats were further divided into four subgroups in the experimental group and three subgroups in the controlled group. These subgroups were fed with different Dioscorea (Chinese yam) dose. After 4 weeks' Dioscorea feeding, 102 rats were all killed and their femurs were extracted. Right femurs were used to examine their physical characteristics, including porosity, bone solid frame density, and bone mineral density. Left femurs were used to examine their mechanical properties, including bending stiffness, ultimate force, and toughness to fracture. Analytical results reveal that a moderate Dioscorea dose has a trend to decrease bone porosity and to raise mechanical properties. The moderate Dioscorea dose is about 250 ~ 500 mg dry power per kilogram body weight per day. However, a higher does is not suggested.

Keywords: Dioscorea, bone density, bone mechanical property

前 言

中年婦女骨質疏鬆(Osteoporosis)是一項非常重要的公共衛生問題。這種現象隨著年齡增加而持續嚴重。通常女性在 45 歲左右進入更年期，約在 50 歲停經(Menopause)。停經之後由於卵巢不再正常規律性地排卵及製造女性賀爾蒙，因此體內賀爾蒙濃度降低，導致骨質快速流失，增加罹患心臟血管疾病的風險，而且伴隨出現許多生理及精神症狀；例如：陰道萎縮乾澀、臉潮紅、盜汗、心悸、焦慮、易怒、憂鬱及失眠等[12,46,48,71]。

前述骨質流失的特徵，乃顯現在骨質量的減低以及骨組織內的顯微結構變化。其原因包括骨形成與再吸收的速率失去平衡，這使得骨骼非常容易因為小創傷而造成骨折[31]。在西方國家，大約有二分之一的女性和三分之一的男性，一生中將承受因骨質疏鬆而骨折的痛苦，並導致骨骼結構的退化[30]。

針對停經症候群的研究上，一般係使用卵巢切除(Ovariectomized)之動物來作為停經的動物模式[5]，其中以齧齒類動物(Rodents)最常被使用於研究卵巢切除後的骨質疏鬆問題[42]。因為卵巢切除後的貓和狗並沒有顯著的骨質流失現象[8]；而豬隻則具有比人類更為緻密的骨結構；另外，人類以外的靈長類動物則過於昂貴[26]。因此，老鼠是廣為接受的小動物模式，牠們也常被用來發展抗骨質疏鬆新藥物的治療策略。研究顯示，大鼠[25,27]

及山羊[32]的卵巢被切除後，都會明顯出現骨骼礦物質流失，造成骨骼的硬度及脆度改變，其機械性質與構造參數之變化情形與人類骨質疏鬆症相似。綜合上述發現，卵巢切除會改變動物的生殖系統及心臟血管系統之功能，也會干擾情緒行為及骨骼機能，其結果與停經症候群相似，因此可以作為停經的動物模式。

在停經動物模式的治療策略上，研究發現，以雌性素進行賀爾蒙療法(Hormone therapy)，兩週後可以增加去卵巢兔子生殖系統的血流供應量、抑制器官萎縮，並且增進潤滑[39]。賀爾蒙療法也可以改善停經婦女生殖系統的功能並且增進情緒健康[44,54]。如眾所知，diosgenin 是一種具有雌性素作用的皂甘元[35]，有研究指出，diosgenin 會促進乳腺的增長[3]，也可以抑制卵巢切除所導致的體重增加現象[52]；以 diosgenin 連續治療一個月可以抑制並且反轉卵巢切除所導致的骨質流失的現象[25]。

因此，以含有 diosgenin 之保健食品(如山藥)探討停經動物後的骨密度與機械特性之保健功效而言，應該是一個值得研究的方向。

山藥(*Dioscorea* spp.; yam)也被稱為薯蕷、薯藥、淮山或田薯等[71]，全世界約有 700 多種，主要分佈在亞熱帶地區，包括東南亞、南美洲及非洲；生長在台灣者約有十多種，其中較廣泛被種植者包括大薯(又稱田薯；*D. alata* L.)、紫田薯(*D. alata* L. var. *purpurea*)、日本山藥(*D. japonica*)及恆春山

藥(D. doryophora)等，大多分佈在北部基隆、宜蘭花蓮、中部南投及南部恆春一帶。它是熱帶國家的人民重要的主食之一，自古以來即被國人利用為上品。歷代利用山藥之例子不勝枚舉，為極佳的補虛養生品。在我國，山藥主要是作為中醫藥材。「神農本草經」詳細記載山藥可以益腎氣、健脾胃、調血補虛、治療室女血枯月閉、婦女經閉不行及產後惡露不盡等症狀。中國古典醫書「本草綱目」也記載山藥可以補中益氣、除寒熱邪氣、益腎氣健脾胃，久服耳聰目明。

山藥具備高營養、低熱量及多重保健功效，其含量豐富的天然植物性賀爾蒙及皂甘成分亦是中醫利用於「滋陰補陽」的緣由。民間亦有諸多流傳，為調理生理能力、病後虛弱體質、婦女產後調養、小孩強健體魄等最佳聖品，是目前科學界已可證實並公認最有效的天然食品。

由於山藥具有很高的營養價值，而且台灣本地亦有相當的產量，其本身即是一種非常好的藥食同源食物[8]。它除了富含澱粉及礦物質之外，還含有許多具有生理活性的成分[43]，文獻指出山藥可以治療骨質疏鬆症[67]、糖尿病[56]及降低血脂肪[11,14]，山藥之萃取物也具有抗菌及抗氧化之功能[28]。「本草綱目」記載山藥能改善精功能，其效果包括：鎮心神、安魂魄、補心氣不足、開達心孔。因為山藥具有改善精神狀況之功效，所以運用在更年期症候群之漢方中藥例如四神湯、六味地黃丸和八味地黃丸

等都重用山藥。

近代化學發現山藥中所含的薯蕷皂甘元，可以合成類固醇藥物，例如腎上腺皮質素及性賀爾蒙(雄性素、雌性素及黃體素)等，是製藥工業相當重要的原料來源[35-37,47]。近代醫學更證實山藥可以治療糖尿病[56]。在 65 歲以上老年人之研究發現，連續服用山藥 3 個星期後，其血液中的三酸甘油質與脂質過氧化物降低，但是 HDL 增加[2]。在大鼠之飼料中添加 25% 山藥，連續餵食 2 週可以預防化學毒物 CCl₄ 所造成的體重減輕與肝腫大[23]。此種結果顯示山藥不但具有抗氧化作用，並且可以穩定血清脂質，而且有解毒作用。

近年來，在農政單位之推廣下，山藥之種植相當普遍。本省所產的山藥不但產量豐富而且品質優異，目前推廣的山藥台農二號產量豐富，可達每公頃 40-60 公噸[79]，是一種高經濟價值的農產品，亦是衛生署公告的 45 種可供膳食使用的藥材之一。政府研究單位如農委會、國科會與衛生署也投下研究經費在山藥之整體利用上[80]；因此山藥是一種相當值得深入探討對健康功效的保健食品，此項主題亦符合本年度行政院衛生署研究重點內所訂研究內容。

雖然在傳統中醫藥領域上，一些天然保健食品被用來治療骨骼相關疾病，但是直到近年才僅有少量的實驗論證文獻發表。2001 年，由陳詩詩[73]

所進行的體外實驗發現，山藥甲醇粗萃物對於腦神經及骨髓中的祖原細胞具有促進增生及形態改變的活性。山藥甲醇粗萃物能刺激骨細胞增生及分化，以補充骨中的造骨祖原細胞及促進造骨細胞的成熟。2003 年，由中國大陸與日本學者所做的研究亦發現山藥之水萃取物含有抗骨質疏鬆的活性 [67]。

另外，2003 年，黃慧娟[74]以山藥低分子甲醇粗萃物處理骨髓細胞及造骨前驅細胞，發現山藥可刺激骨髓細胞的增生及型態改變，並促進造骨前驅細胞表現造骨細胞活性標記 alkaline phosphatase (ALP)。他們並建立一卵巢切除而造成骨質疏鬆症小鼠動物模式，探討山藥是否具有避免骨質疏鬆症發生的效果。結果發現口服餵食山藥低分子只需在 40 mg/kg/day 的劑量下就具有促進造骨細胞活性標記 ALP 及骨質礦化增加，並促進小鼠骨髓細胞中與骨質生成 (BMP-2, TGF- β , ALP) 相關基因，及抑制再吸收 (IL-6) 相關基因的 mRNA 表現，初步獲得山藥低分子影響骨質生成的機制；而在大腿骨組織切片分析方面也可促進小樑骨體積增加。

然而，雖然山藥在骨細胞的增生以及相關基因上已有初步的結果，但是在臨床檢測以及骨骼特性的評估上，卻尚未發現有更多的研究報導。若能廣泛並深入探討其保健功能，普及推廣，將對民眾健康有所幫助。

過去數十年來，各種臨床上非侵入性之診斷方式，例如雙能量 X 光骨

密度掃描儀(DEXA)、核磁共振影像(MRI)、定量化電腦斷層掃描(QCT)以及定量化超音波(QUS)衰減技術等，已經被用來評估骨質量或骨礦物質密度[1,6,7,24,29,45,55,57-60]。但這些方法中，DEXA 是最被廣泛使用以及被接受的骨礦物分析法[15,40,55]。目前最常以 DEXA 的數據來觀察婦女是否具有骨質疏鬆症或是其他的症狀。而扇形雙光子骨質密度掃描儀則具有能夠檢測個體不同部位之骨密度、輻射劑量不高、費用較低、容易進行動物實驗等優點。

在骨骼特性的評估上，文獻記載骨骼之機械性質與其顯微結構有相當大之關係。Currey[18]於1975年發表骨骼之楊氏係數與骨礦物含量有密切關係。而骨礦物含量之多寡即密切影響骨密度值與機械性質[38,41]。1977年Carter和Hayes[9]發現楊氏係數與疏鬆骨和密質骨之骨密度的3次方成正比，由此可知骨密度之重要性。2002年Wachter等人[61]以定量化電腦斷層掃描預測骨密度，並指出密質骨之骨密度與機械強度有高度關聯性，及密質骨之多孔結構亦與機械強度有關。

雖然密質骨之強度與勁度正比於骨密度[10,20,66]，但孔隙率亦是影響骨骼強度之重要因素[22,62]。Schaffler以拉伸試驗發現牛的密質骨之彈性模數與孔隙率的0.55次方成反比[50]。1988年Currey[19]採用多種動物之密質骨進行彎曲和拉伸試驗，而分析出楊氏係數 $E = kV_f^3$ 之關係式，其中體積率

V_f 為固體部分佔骨骼體積之比例(=1-孔隙率)。Bell等人[4]亦統計分析人類股骨之密質骨孔隙率與骨折之相互關係。1998年Wang等人[63]以baboons股骨做拉伸試驗，得知年齡愈大，破裂韌度愈小，但韌度之改變並不一定與骨礦物密度、孔隙率、拉伸強度有直接關係。

本計畫利用切除卵巢之雌鼠作為停經動物之模式。在摘除卵巢一個月後，連續經口餵食山藥(南投名間鄉紅薯或稱紫田薯；*Dioscorea L. alata*. Var. *purpurea* (Roxb.) M. Pouch)(0, 250, 750, 1500 mg/kg/day) 4週，餵食程序完成後摘取動物之左右股骨。進一步測量骨組織中的礦物質含量、股骨體積，並進行機械測試，統計分析相關參數之變化情形，以探討山藥對停經動物之骨骼成分及機械特性之影響。

材料與方法

一、實驗動物之準備

(一) 實驗動物與環境

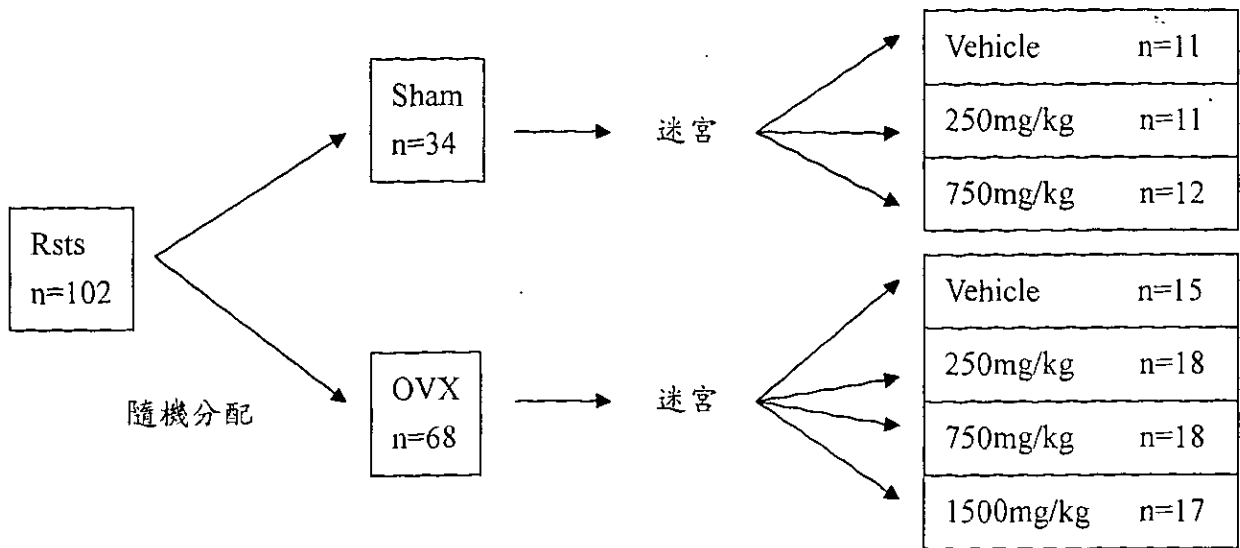
本實驗使用購自國家實驗動物中心之雌性 Wistar 大鼠(體重 250 ± 50 g) 102 隻為實驗動物，每 5 隻大鼠飼養在一個透明壓克力動物籠 ($20 \times 26 \times 47$ cm) 中。動物都將飼養在燈光與溫度控制良好 (早上 7 點開燈，晚上 7 點關燈； $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ；相對溼度 68%) 之動物房內，給予充足之飼料及飲水。本研究所有的實驗程序都將遵照美國國家衛生研究院「實驗動物使用與照顧須知」(the NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) 執行。

(二) 一般程序

實驗動物購入後，將其隨機分配放入動物籠內飼養，而後連續 3 天每天對大鼠施予 5 分鐘之捉握操弄(Handling)，以降低動物對實驗操作者之壓力反應。如圖一，將 102 隻大鼠隨機地分配 68 隻為實驗組(稱為 OVX 組)以進行卵巢切除手術，另外 34 隻為對照組，僅進行假手術(Sham operation，稱為 Sham 組)而不作卵巢切除。

(三) 動物手術(卵巢切除及不切除)

將動物以 ketamine (100 mg/kg, ip) 麻醉，而後剃除其背部腰椎處之毛髮，在腰椎中央處切一長度約 3 cm 之開口，經由此開口將其兩側之卵巢摘



圖一 實驗動物之分組方式

除，而後將此傷口縫合並以碘酒消毒。其後連續 3 天每天施打抗生素以避免感染。假手術控制組之動物也接受相同之麻醉及外科手術處理，但是保留其卵巢完整。

(四) 山藥劑量之控制分組

手術後所有大鼠恢復一個月。對實驗組(OVX 組)及控制組(Sham 組)之 102 隻大鼠進行開放空間(10 min)及高腳十字迷宮(Elevated plus-maze, 5 min)試驗，以測量動物之焦慮及憂鬱參數。所有的行為實驗都同時有 2 位經驗豐富的觀察者同步進行參數記錄，並且進行錄影，以便進一步分析之用。將控制組依焦慮程度再分為三組，每組大約 11 隻(圖一)，均勻分配含有心理層面上低焦慮、中焦慮及高焦慮之大鼠，以將心理因素控制在每一分組大約相同。再對其進行後續之山藥餵食。其中第一組之食物不含有任何山藥，而第二組之山藥劑量為 250mg/kg/天，第三組之山藥劑量為 750mg/kg/

天。在實驗組方面共分為四組，每組大約 17 隻，同樣的均勻分配含有心理層面上低焦慮、中焦慮及高焦慮之大鼠，再對其進行後續之山藥餵食。其中第一組之食物不含有任何山藥，而第二組之山藥劑量為 250mg/kg/天，第三組之山藥劑量為 750mg/kg/天，第四組之山藥劑量為 1500mg/kg/天。餵食過程(飲用水乃給予去離子水)連續進行 4 週。

(五) 山藥製劑

取南投名間鄉紅薯為本研究之山藥來源，將山藥塊莖洗淨、去皮及切片，於-70 °C 冷凍，以真空冷凍乾燥機(EYELA, CA1500, Tokyo)冷凍乾燥 24 小時，再以磨粉機磨粉後冷凍保存。山藥冷凍乾燥粉外觀呈紫紅色粉狀。試驗前，山藥粉以逆滲透去離子水(Ultropure, reverse osmosis system, Iowa, USA)新鮮配製，呈膠質粘稠狀物質。

(六) 動物犧牲與組織摘取

實驗結束後使用 CO₂ 令動物昏迷，而後進行犧牲，取其左右股骨。將取得的股骨外表殘留肌肉、筋膜等去除後，立刻保持於-20°C 冷凍直到進行後續測量。動物屍體交由動物中心統一處理。本實驗未涉及任何潛在危險之物質。

本研究共分五批購入實驗用鼠，每批約二十五隻，每隔一週購入一批。由第一批實驗鼠購入到最後一批實驗鼠犧牲取骨，整個過程為十六週。取

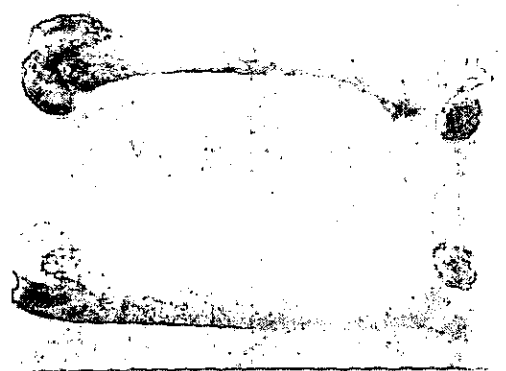
得動物骨後立刻冷凍於-20°C之冰箱，待取完所有批次之動物骨後，方進行後續之骨物理參數測量。

二、股骨礦物質含量、體積、機械試驗

(一)骨內礦物質含量之測量

本計畫採用扇形骨密度掃描儀(EXPERT-XL, LUNAR)進行骨骼礦物質含量之測量。將大鼠之股骨解凍後浸泡於深 10 公分之水中[34]，並使 X 光之投影方向與股骨之軸向垂直，以模擬 *in vivo* 之狀態。此種將實驗動物之股骨置於水中之作法已經被證實可以正確模擬骨骼周圍具有軟組織之狀態[49]。DEXA 將提供該股骨之礦物質含量(g)、投影面積(cm^2)、投影式二維骨密度(g/cm^2)等。

左右兩股骨，如圖二，均測量其礦物質含量，而右股骨將進行具有影響材料性質之骨密度、股孔隙率及體積之測量；左股骨將進行破壞性之機械測試。



圖二 實驗鼠之股骨型態。(上)右股骨，(下)左股骨。

(二)孔隙率與體積測量前之準備

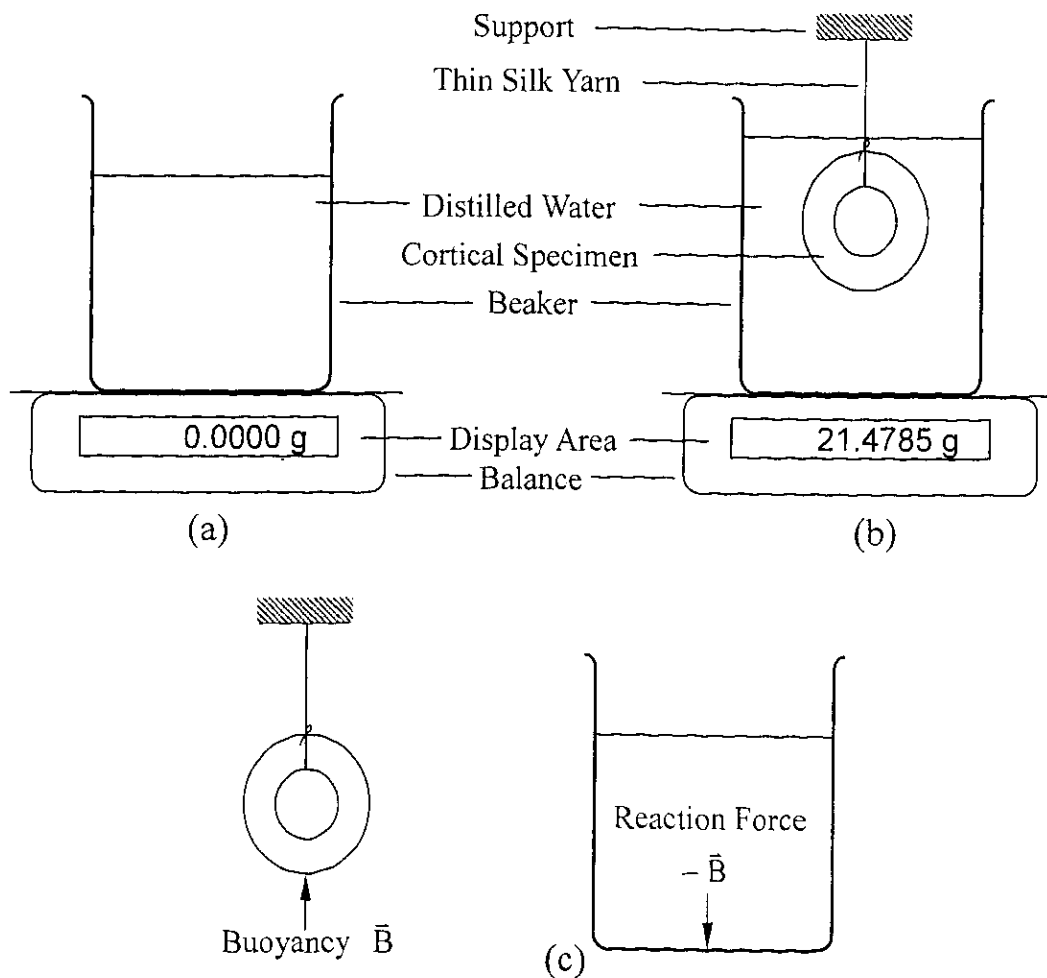
依文獻[53]所描述之方法，將所有的大鼠之右股骨浸泡於氯仿(Chloroform)中以去除骨組織內的脂肪。去除脂肪後的右股骨則置入 50°C 之乾燥箱 72 小時，以將水分完全去除。利用電子天平(Mettler, AE240-S)測量股骨之乾重。

由於股骨浸泡過氯仿並經過乾燥，其機械特性可能受到影響，因此右股骨並不進行機械試驗，而係以左股骨進行機械試驗。

(三)股骨體積之測量

由於股骨外型並非完美之幾何型態，因此並不能用傳統所使用之游標卡尺或數學公式來決定其體積。本計畫已發展一套精密而準確之不規則沉體體積量測技術[13]。將所有股骨浸泡於純水中至少 60 小時(兩天半)，以使水分能充分填充股骨的所有孔隙。研究證實[13]，股骨在經過 60 小時的浸泡後可以達到至少 95%之濕潤；所謂 95%之濕潤乃指 95%之骨骼孔隙被水分子填滿。測量大鼠股骨體積之過程如圖二所示，取一燒杯並倒入約五公分之純水，水位高度僅為使骨骼能完全浸泡於水中，並且不觸及燒杯杯底及杯壁為原則。將該盛水燒杯置放於一能測至 0.0001 公克之電子天平上，並將電子天平重新歸零。在股骨一端綁上細絲線後，將股骨完全浸沒入水中，此時，僅是股骨表面之水分子與燒杯內之水分子進行交流作用，而且

因為股骨已經過 60 小時之浸泡，進入股骨之水分子與流出股骨之水分立刻達到動態平衡。此時讀取電子天平上之讀數 W 。如果考慮一大氣壓、 25°C 時純水之密度為 0.9971 g/cm^3 [70]，則股骨之體積為：



圖三 股骨體積之測量程序。(a)將一盛有純水約五公分高之燒杯置於一電子天平，並使其重量讀數歸零。(b)將待測至少 95%飽和之濕潤股骨以細絲線懸掛，並完全浸沒於水中，讀取天平之重量顯示。(c)系統內相關作用力之分離體圖。[13]

$$V = W/0.9971$$

由圖二(c)之系統分離體圖可以知道，當物體(股骨)完全沒入水中後，立刻受到一向上之液體浮力作用。阿基米得原理告訴我們，浮力之大小等於液面下之物體體積 V 乘以液體密度 D 。且由牛頓第三運動定律知道，作用於股骨之浮力大小等於垂直向下作用於電子天平之反力大小。此反力即可由電子天平之顯示區讀取出來。因此將電子天平之讀數 W 除以液體密度(此時為純水於一大氣壓、 25°C 時之密度 0.9971)即可測得物體(股骨)體積。

(三) 股骨骨密度之計算

將由 DEXA 所測量到之整體股骨礦物質含量除以經由前述技術所測得之體積，而可得到股骨每單位體積所含礦物質之重量，稱為實際骨密度 BMD(Bone mineral density; g/cm^3)。

(四) 股骨孔隙率之計算

將濕潤之股骨外表水分拭去後，測量其濕重。將股骨之濕重 W_w 減去其乾重 W_D 後可以獲得填佔於股骨中的純水重 V_L 。將水重除以其密度即可得到股骨內的孔隙體積。將孔隙體積除以骨總體積 V_B 即可求得該骨骼之孔隙率 P 。

$$\text{Porosity}(P) = \frac{V_L}{V_B} \times 100\%$$

(五) 骨組織中固體支架密度

將骨切塊乾重 W_D (即是固體支架重量) 除以固體支架體積 V_S , 其中

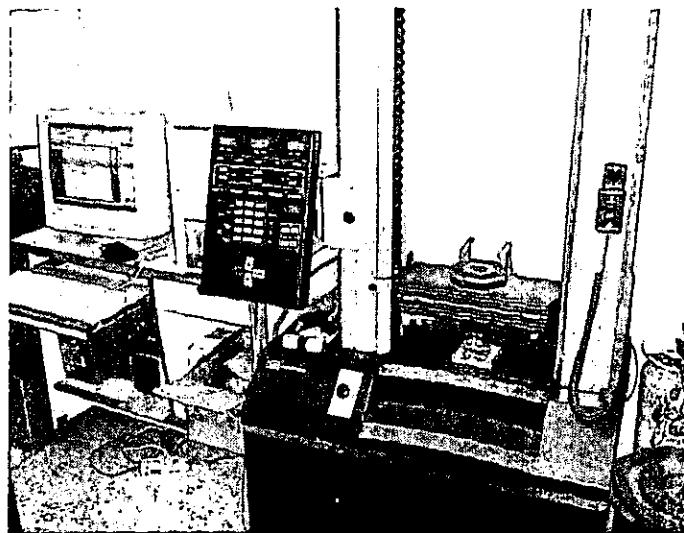
$$V_S = V_B - V_L。$$

$$D_S = \frac{W_D}{V_S} = \frac{W_D}{V_B - V_L}$$

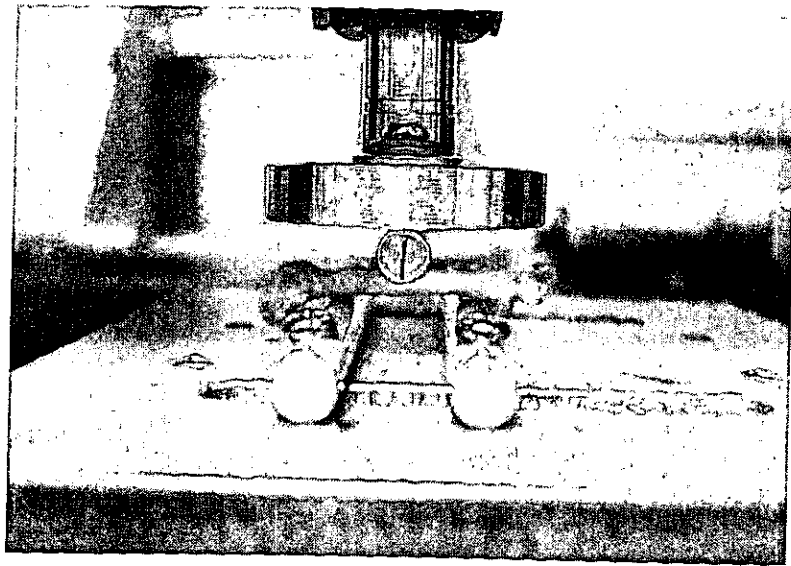
(六) 股骨機械特性之試驗

1. 將股骨由 -20°C 之冰箱中取出, 在室溫下浸潤於生理食鹽水中解凍, 並持續 48 小時, 使其充分飽含水分, 成為濕潤之骨試片, 模擬股骨於生物體中之環境。再以材料試驗機 (Material test system, INSTRON 4464-Standard) (圖四), 進行三點彎曲壓縮試驗 (Three-point bending) [51]。INSTRON 材料試驗機之荷重元 (Load cell) 最大容許負載為 500N。

2. 在進行材料試驗時能使股骨穩定地受彎曲負荷, 本研究自行設計一個股骨測試台 (圖五), 包含底座為 16mm 厚之鋁合金測試平台, 2 支直徑 6mm



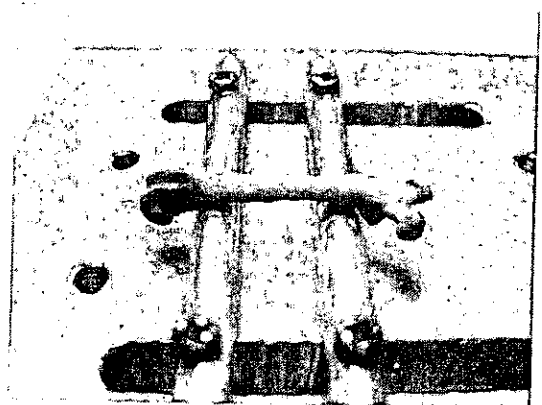
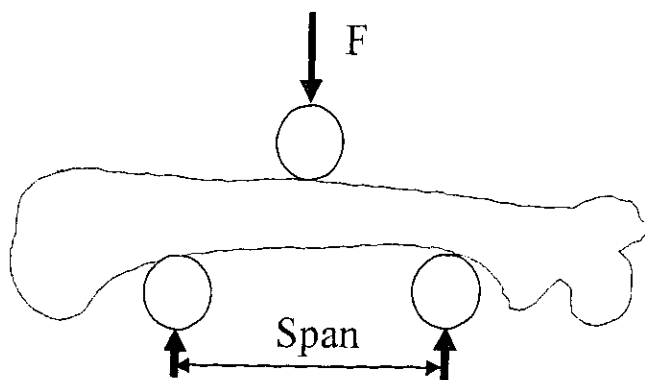
圖四 材料試驗機 (INSTRON)



圖五 三點彎曲壓縮試驗測試台

之鋁合金圓桿固定於測試平台，兩支圓桿平行安裝，相對距離可平行移動，上方壓縮夾頭(Crosshead)以鋁合金圓柱車削成前方碟狀之壓縮平板，鎖定於荷重元(Load cell)，下方正中央固定 1 支直徑 6mm 之鋁合金圓桿。

如圖六，將股骨置放於三點彎曲壓縮試驗測試平台上之兩支圓桿上，圓桿距離調至最佳之距離，為可完全支撐股骨且不影響測試穩定度之最大

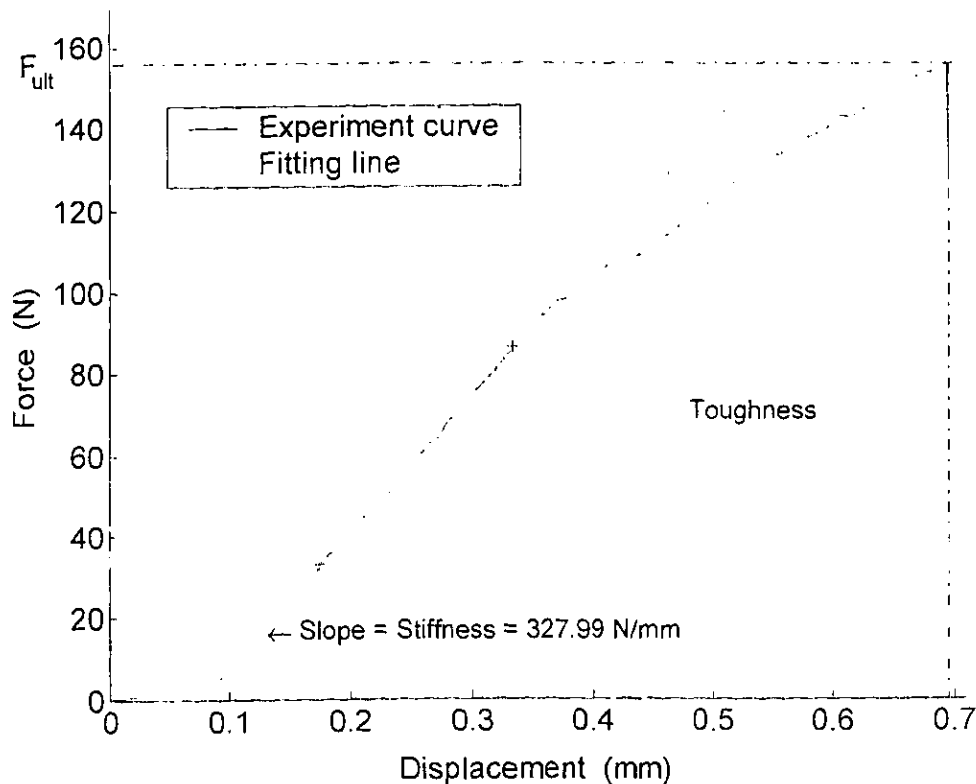


圖六 股骨三點彎曲壓縮示意圖

容許距離之跨距(span)為 15.7mm。

crosshead 之速度為每分鐘 0.5mm，緩慢向下壓縮，並以電腦記錄壓縮負載力量 F 與壓縮位移 D ，以 10Hz 之取樣頻率紀錄負載-位移資料 (Load-displacement data)，直至骨試片斷裂為止。

3. 將壓縮試驗[51]之結果繪製成負載-位移曲線，每一個股骨試片皆有相同之趨勢圖形，如圖七，並由負載-位移曲線之線性段資料點，以一階多項式擬合(Fitting)直線方程式，求出此直線方程式之斜率可得三點彎曲之勁度。



圖七 三點彎曲壓縮試驗之力量-位移曲線圖。曲線線性部分之斜率為勁度 S ，斷裂時之最大力量為極限力量 F_{ult} ，且曲線下方之面積為 toughness。

圖七中，曲線線性部分之斜率為勁度 S (Stiffness, S)，其單位為 N/mm 。負載-位移曲線圖中最大之負載力量為斷裂時之力量，定義為極限力量 (Ultimate Force, F_{ult})，單位為 N ；而負載-位移曲線下方由零至最大力量所圍之面積定義為強韌性 (Toughness)，單位為 $N \cdot mm$ ，代表三點彎曲壓縮試驗股骨斷裂前所吸收之能量。

結 果

控制組：假手術未切除卵巢

表一顯示，對於接受假手術之控制組大鼠，每天給予 0 mg/kg、250 mg/kg、750 mg/kg 等不同劑量之山藥，其孔隙率 P 分別為 11.85 %、10.93 %、13.04 %；利用單因子變異數分析發現，山藥對大鼠骨骼孔隙率會有顯著影響 ($P < 0.05$)。以 250 mg/kg 這組之股骨孔隙率最低，因此，其緻密度較佳。

控制組大鼠之實際骨密度(BMD)分別為 0.9024 g/cm^3 、 0.9273 g/cm^3 、 0.8559 g/cm^3 ，利用單因子變異數分析發現山藥對大鼠骨骼的礦物密度有顯著影響 ($P < 0.05$)。同樣以 250 mg/kg 這組為佳。

在固體支架密度 D_s ，即每單位固體支架體積所具有的質量方面；對於飲食中沒有添加山藥之控制組，其值為 3.8436 g/cm^3 ；若是在飲食中每公斤

表一 控制組(未切除卵巢)之骨骼特性

山藥劑量(mg)	0	250	750
孔隙率(%)	11.85	10.93	13.05
礦物密度(g/cm^3)	0.9024	0.9273	0.8559
固體密度(g/cm^3)	3.8436	3.8350	3.7651
勁度(N/mm)	297.63	330.93	296.09
能量(N·mm)	42.61	50.42	43.04
極限力(N)	129.86	149.93	132.62

體重給予 250 mg/kg 的山藥，其值為 3.8350g/cm^3 ，若是將山藥劑量增加至 750 mg/kg 時其值為 3.7651g/cm^3 ，利用單因子變異數分析山藥劑量對固體密度之影響，結果發現沒有顯著影響，但仍以 250 mg/kg 這組為佳。

在骨骼力學之表現方面，沒吃山藥之大鼠其骨骼之勁度、斷裂能量及極限力分別為 297.63 N/mm、42.61 N·mm、129.86 N。若將飲食中以每公斤體重添加 250 mg 的山藥，其股骨的勁度、斷裂能量及極限力分別為 330.93 N/mm、50.42 N·mm、149.93 N。若是將山藥的劑量增加至 750 mg/kg 則勁度為 296.09 N/mm，斷裂能量為 43.04 N·mm，極限力為 132.62 N。利用單因子變異數分析山藥劑量的各項力學特性差異，發現山藥劑量對勁度、斷裂能量、極限力均有顯著影響 ($P<0.05$)，仍以 250 mg/kg 這組為佳。

實驗組：切除卵巢

從表二可知，切除卵巢後大鼠骨骼之各項物理特性及力學特性，在其飲食中以每公斤體重給予 0 mg、250 mg、750 mg、1500 mg 的山藥，其股骨之孔隙率分別為 14.60 %、14.44 %、14.02 %、13.48 %；股骨骨密度分別為 0.7992g/cm^3 、 0.7886g/cm^3 、 0.7783g/cm^3 、 0.7854g/cm^3 ；股骨固體支架密度分別為 1.1915g/cm^3 、 1.1597g/cm^3 、 1.1633g/cm^3 、 1.1593g/cm^3 。利用單因子變異數分析發現，切除卵巢後，山藥對股骨之孔隙率、骨密度和固體支架密度並未發現有顯著影響 ($P>0.05$)，但在劑量為 750mg/kg 之大鼠上

表二 實驗組(切除卵巢)之骨骼特性

山藥劑量(mg)	0	250	750	1500
孔隙率(%)	14.60	14.44	14.02	13.48
礦物密度(g/cm ³)	0.7992	0.7886	0.7783	0.7854
固體密度(g/cm ³)	1.1915	1.1597	1.1633	1.1593
勁度(N/mm)	244.21	259.58	272.77	260.78
能量(N·mm)	26.60	34.13	37.70	34.13
極限力(N)	113.12	116.40	126.92	121.84

顯示有較佳之表現趨勢。另外，在股骨勁度上分別為 244.21 N/mm、259.58 N/mm、272.77 N/mm、260.78 N/mm；股骨斷裂能量分別為 26.60 N·mm、34.13 N·mm、37.70 N·mm、34.13 N·mm；股骨極限力分別為 113.120 N、116.70 N、126.915 N、121.84 N。利用單因子變異數分析發現切除卵巢後，山藥劑量對股骨之勁度、斷裂能量、極限力有顯著影響(P<0.05)，且以 750mg/kg 這組最佳。

實驗組與對照組之比較

從表一及表二之數據觀察，切除卵巢後(停經)的大雌鼠，不管在物性(孔隙率、骨密度、和固體支架密度)或力學特性(股骨勁度、斷裂所需能量、及斷裂之極限力)上似乎都比控制組(卵巢完整)之大鼠不佳。

由於在山藥劑量的給予上，實驗組比對照組之組數多一組，故先利用 t

檢定進行實驗組中山藥添加量 1500 mg 與 750 mg 此二組各項參數之比較，藉以瞭解其間是否有顯著差異。檢定後發現不論是物理特性或是力學特性，山藥添加 1500 mg 與 750 mg 均沒有顯著差異 ($P>0.05$)，顯示山藥添加劑量超過 750 mg 後即對已切除卵巢之老鼠骨骼各項參數不造成影響，故可將實驗組中之 1500 mg 山藥劑量之影響忽略不考慮。

接著，在 95%的信賴區間下，進行實驗組與對照組中切除卵巢與山藥添加劑量之雙因子變異數分析 ($\alpha=0.05$)。在物性方面，卵巢的切除及山藥添加劑量對老鼠骨骼之孔隙率有顯著影響 ($P<0.05$)，其中卵巢的切除會使得骨骼之孔隙率顯著增加。卵巢的切除及山藥添加劑量均對老鼠骨骼之礦物密度造成影響 ($P<0.05$)，其中卵巢切除後之礦物密度會顯著減少 ($P<0.05$)。卵巢的切除對老鼠骨骼之固體密度亦會顯著減少 ($P<0.05$)，但山藥的添加劑量對固體支架密度沒有影響 ($P<0.05$)。在力學特性方面，經雙因子變異數分析發現，山藥添加劑量對實驗組與對照組之勁度、能量、極限力均會造成影響 ($P<0.05$)，且卵巢的切除也均會對上述三項參數造成顯著減少 ($P<0.05$)，有關山藥劑量影響各項參數之討論在上二節中已分述過，在此節中不多加討論。

討 論

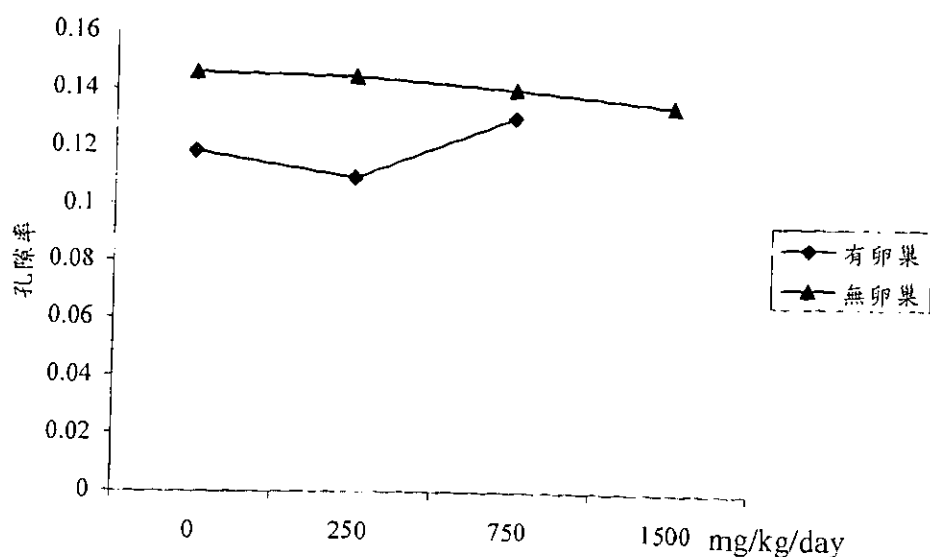
文獻上指出[72,78]，給予大鼠餵食山藥乾燥粉末 500-2000 mg/kg/day 連續 28 天(4 週)，對大鼠之血液參數、腎功能及肝功能並無毒性。依照山藥塊莖含水量約佔總重量之 70%[75]推估，2000 mg 之粉末相當於來自超過 6000 mg 之山藥塊莖。這些食物相當於大鼠體重的 2.5%或是每日攝食量的 1/3，可以說是相當大的劑量。研究結果顯示，每天給予大鼠餵食 750 mg/kg 之山藥粉末連續 4 週，可以降低切除卵巢之大鼠的焦慮行為[64]。另外，一般進行停經後骨質疏鬆症之研究，通常將動物之卵巢切除 2-6 週後開始進行治療，療程約 4-6 週[68,69]。因此本研究計畫將動物之卵巢切除後 4 週開始餵食山藥(250-1500 mg/kg/day)連續 4 週。

本研究係採用南投名間紅薯，雖然有些研究指出，在其所測量之本省 19 種山藥中，僅有基隆山藥、陽明山原生種山藥及嘉義刺薯含有 diosgenin [77]，但是文獻指出本省栽種及農業試驗所收集之 34 種山藥皆含有 diosgenin，其含量約佔山藥乾重之 3-9%之間[75]，有些研究發現南投名間長紅所含的 diosgenin 約為 1.5-1.8 mg/g[76]或 136.2-150.7 ng/g[72]。這些差異可能是由於山藥生長環境或採收季節不同所致，因此難據以認定南投名間長紅完全不含 diosgenin。再者，本研究採用山藥粉末而非直接使用 diosgenin 做為藥物處理，其目的是探討山藥作為營養食品在骨骼保健之角

色，並非單純只探討 diosgenin 之功能。

物性方面

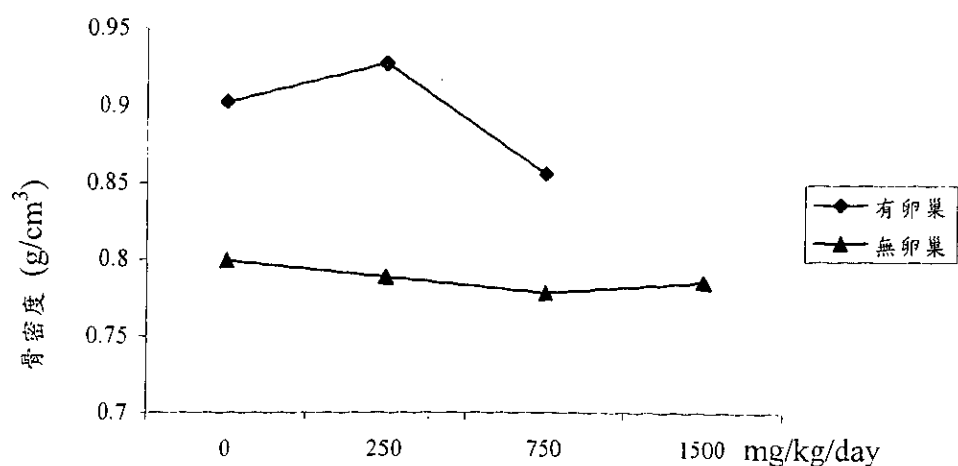
圖八顯示，經雙因子變異數分析卵巢切除後，股骨的孔隙率比沒有切除卵巢之大鼠來的高，顯示在切除卵巢後（停經）股骨的孔隙率上升，造成股骨內的空隙變多，明顯呈現骨質疏鬆的現象，這與文獻上的報告是一致的[25, 27]。另從圖一亦可發現切除卵巢後山藥劑量的多寡未在孔隙率上產生統計上的差異，但仍呈現隨著山藥劑量的增加而可減少孔隙率之現象。但在沒切除卵巢之控制組大鼠上，明顯會亦因山藥劑量之不同而使得孔隙率有所增減，顯示若在飲食中添加 250 mg/kg 之山藥劑量有助於骨骼的孔隙變少，但是若是添加過量的山藥(750mg)反而又會使骨骼孔隙率上升。



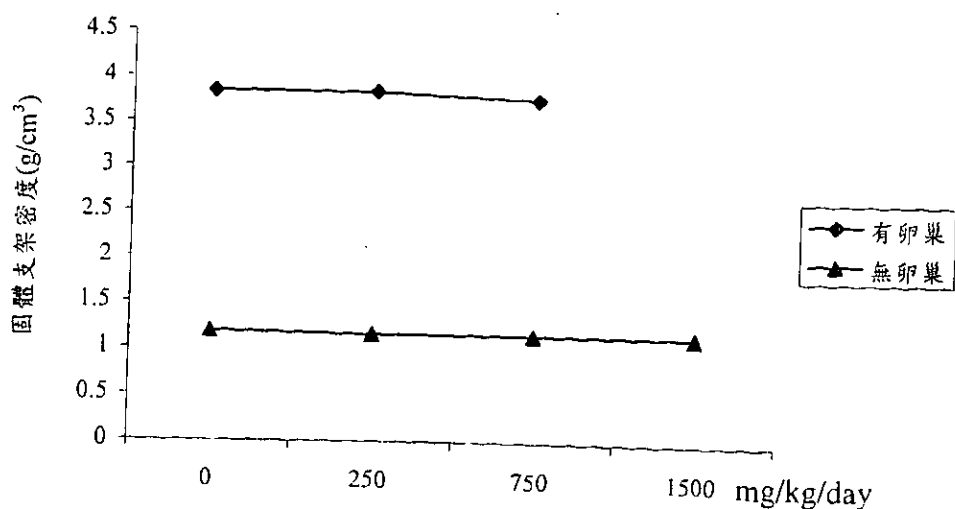
圖八 山藥攝取量對孔隙率之影響

圖九顯示經雙因子變異數分析後，有卵巢的大鼠比卵巢切除後之大鼠的礦物密度來的高，顯示有卵巢之大鼠其骨骼中礦物質成分比卵巢切除(停經)的大鼠要多，可知卵巢的切除會造成骨骼中礦物質的流失。有卵巢的大鼠，不論有無吃山藥，其股骨中的礦物質含量是相當高，其中又以 250 mg/kg 的山藥劑量的大鼠礦物質量是最高的。但是若在飲食中添加 750 mg 的山藥，其骨骼礦物質密度明顯變低，推測原因應與孔隙率增加有關，但其原因仍有待進一步研究。在實驗組方面，卵巢切除後不論山藥劑量的多寡，股骨礦物質含量都沒有明顯的改變。

在經過雙因子變異數交叉分析後，可從圖十發現，控制組之大鼠固體支架密度比卵巢切除後的大鼠來的高，顯示切除卵巢後骨骼中固體支架的密度較低，亦即股骨之固體支架的”質”變差。



圖九 山藥攝取量對骨密度之影響

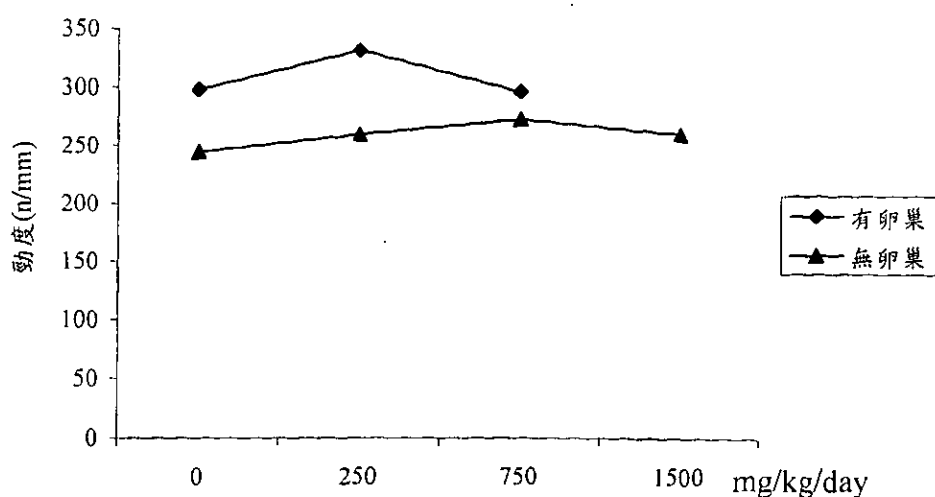


圖十 山藥攝取量對股骨固體支架密度之影響

比較圖八與圖十可以發現，切除卵巢後的大鼠骨骼，不僅在固體支架（“量”，quantity）上明顯減少，同時，其固體支架（“質”，quality）也一併減少。其次，山藥劑量的添加並未顯現出對固體支架“質”方面的改善，但卻顯現對於切除卵巢後的大鼠骨骼有“量”方面的改善。Hernandez et al. [24]經由脊椎及股骨所取得的海綿骨和密質骨試體分析後認為，骨骼體積率和礦物率之相關性極低($r^2=0.01$)，兩者可視為獨立(independent)變數。亦即，骨骼固體支架的質和量，可能受到各種因素之影響而有不同程度之變化。此亦造成整體骨密度的變化(圖九)。

力學表現方面

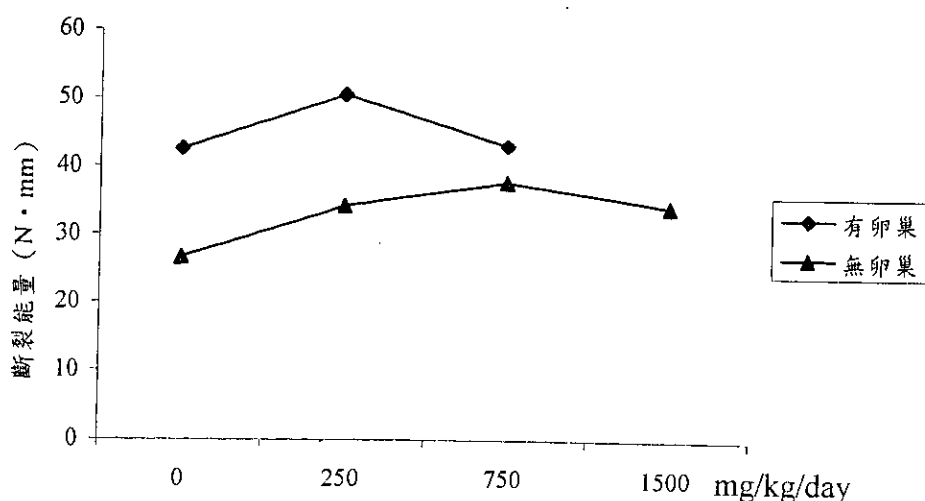
圖十一顯示，在飲食中沒有添加山藥的情況下，有卵巢之大鼠皆比無



圖十一 山藥攝取量對股骨勁度之影響

卵巢之大鼠的骨骼勁度來的高，且經雙因子變異數分析後卵巢的切除會造成勁度的差異，顯示在沒有吃山藥的狀況下，沒有停經之婦女其骨骼比停經之婦女來的硬。但是若是給予 250 mg/kg 之山藥劑量，可發現卵巢切除與卵巢保持完整之大鼠骨骼勁度皆提升，其中以有卵巢之大鼠提升較多。若是將山藥添加劑量增加至 750 mg，無卵巢之大鼠其勁度提升到與有卵巢之大鼠相近，而有卵巢之大鼠骨骼勁度反而下降，經 t 檢定統計發現這兩組間並無顯著差異。顯示過量的山藥造成骨骼孔隙率上升、礦物密度下降，使得大鼠骨骼之勁度下降。若再將山藥添加劑量增加至 1500 mg 時，無卵巢之骨骼勁度微幅下降，但經 t 檢定發現此兩組並無顯著差異。由以上可知在飲食中添加適量的山藥，對沒有停經及有停經之婦女均有幫助。

從圖十二可發現，不給予山藥的情況下，有卵巢的大鼠均比無卵巢大



圖十二 山藥攝取量對股骨斷裂能量之影響

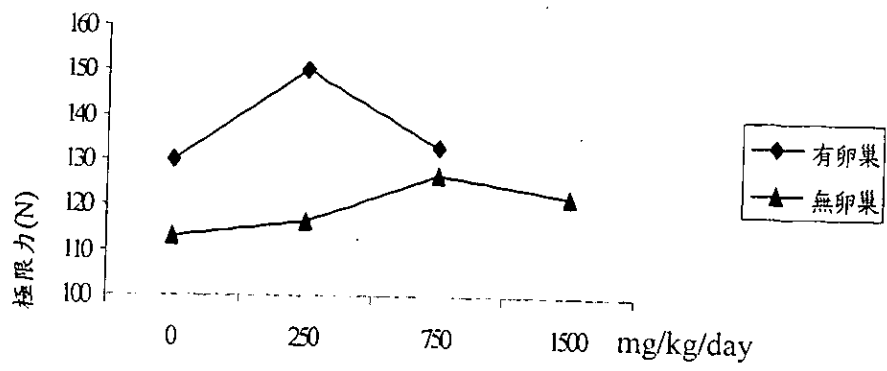
鼠的斷裂能量來的高，顯示沒有卵巢（停經）之雌鼠，其骨骼所能承受斷裂之能量比有卵巢（沒有停經）是低的。但是若是在飲食中添加 250 mg/kg 劑量之山藥，可發現無卵巢之大鼠其骨骼的斷裂能量大幅提昇到 34.13 N·mm，而有卵巢也大幅提昇至 50.42 N·mm，在飲食中添加山藥可大幅提昇骨骼的耐受能量。若是將山藥添加劑量增加至 750 mg，可發現無卵巢之斷裂能量又提升至 37.695 N·mm，而有卵巢之大鼠則下降到 43.035 N·mm，但是有卵巢之大鼠還是比無卵巢之大鼠骨骼斷裂能量高一點，顯示在飲食中添加過量山藥對有卵巢之大鼠影響較大，與骨骼勁度一樣，推測過量的山藥添加因造成骨骼物性的改變進而使得其力學特性的改變。但是若是將山藥添加劑量增加至 1500 mg，則無卵巢之大鼠骨骼的斷裂能量下降，但利用 t 檢定發現山藥添加劑量 1500 mg 與 750 mg 此兩組之斷裂能量

沒有顯著差異，顯示過量之山藥對無卵巢大鼠的骨骼斷裂能量並不會有顯著的效果。

在經雙因子變異數交叉分析後，可發現切除卵巢之大鼠骨骼之極限力比未切除的來的顯著高，亦可從圖十三發現，在沒有給予山藥的情況下，有卵巢之大鼠比無卵巢之大鼠的極限力高許多，在 t 檢定統計下發現卵巢之存在與否對大鼠骨骼力學特性有顯著差異。若是在飲食中添加 250 mg/kg 劑量山藥，可發現沒有卵巢之大鼠其極限力微幅上升，但是有卵巢之大鼠其極限力大幅上升，對於有卵巢雌鼠之骨骼有明顯助益。若是在飲食中將山藥添加劑量增加至 750 mg/kg 時，無卵巢之大鼠骨骼極限力則有明顯上升，且有卵巢之大鼠則下降。但是若是將山藥添加劑量增加至 1500 mg 時，利用 t 檢定與山藥添加劑量 750 mg 比較發現並無顯著差異。

研究發現[33]，孔隙率對骨骼整體力學特性遠較礦物重量率具有更大的影響力。比較骨骼物性(圖八)與力學特性(圖十一至十三)，其進一步驗證骨骼孔隙率對骨骼力學特性之影響更大。

若對 750mg/kg/天之劑量而言，以一位 55 公斤之個體，每天所食用之山藥乾燥粉末為 41.3g，若依照山藥塊莖含水量約佔總重量之 70%推估，41.3g 之乾燥粉末相當於 138g 之濕潤山藥塊莖。



圖十三 山藥攝取量對股骨極限力之影響

結論與建議

本研究發現，在物性的表現上，適當山藥的攝取量具有降低骨骼孔隙率之趨勢。再從力學表現來看，由於骨骼物性的改變，進而使得其相對的力學特性亦增強。適當的攝取量約為每公斤體重每天 250~500 mg 山藥粉末，但過量食用並未見其功效隨之增加。

九十四年度計畫重要研究成果及對衛生署之具體建議

1.本計畫之新發現或新發明

本研究發現，在物性的表現上，適當山藥的攝取量具有降低骨骼孔隙率之趨勢。再從力學表現來看，由於骨骼物性的改變，進而使得其相對的力學特性亦提升。

2.本計畫對民眾具教育宣導之成果

本計畫未對民眾進行任何教育宣導

3.本計畫對醫藥衛生政策之具體建議

適當的攝取量約為每公斤體重每天 250~500 mg 山藥粉末，而山藥粉末重量約佔濕潤莖塊之 30%，可輕易換算為適當濕潤山藥莖塊之食用量，但不建議過量食用。

本省所產的山藥不但產量豐富而且品質優異，目前推廣的山藥台農二號產量豐富，可達每公頃 40-60 公噸，是一種高經濟價值的農產品，亦是衛生署公告的 45 種可供膳食使用的藥材之一，故應可適時推廣山藥之食用。

參 考 文 獻

- [1] Adams JE: Osteoporosis and bone mineral densitometry. *Curr Opin Radiol* 1992; 6: 11-20.
- [2] Araghiniknam M, Chung S, Nelson-White T, and Eskelson C, Watson RR: Antioxidant activity of dioscorea and dehydroepiandrosterone (DHEA) in older humans. *Life Sci* 1996; 59: PL147-157.
- [3] Aradhana, Rao AR, and Kale RK: Diosgenin--a growth stimulator of mammary gland of ovariectomized mouse. *Indian J Exp Biol* 1992; 30: 367-370.
- [4] Bell KL: Regional differences in cortical porosity in the fractured femoral neck. *Bone* 1999; 24(1): 57-64.
- [5] Bosse R and Di Paolo T: Dopamine and GABAA receptor imbalance after ovariectomy in rats: model of menopause. *J Psychiatry Neurosci* 1995; 20: 364-371.
- [6] Bousson V, Bergot C, Meunier A, Barbot F, Parlier-Cuau C, Laval-Jeantet AM, and Laredo JD: CT of the middiaphyseal femur: cortical bone mineral density and relation to porosity. *Radiology* 2000; 217(1): 179-187.
- [7] Bouxsein ML, Coan BS, and Lee SC: Prediction of the strength of the elderly proximal femur by bone mineral density and quantitative ultrasound measurements of the heel and tibia. *Bone* 1999; 1: 49-54.
- [8] Boyce RW, Franks AF, and Jankowsky ML: Sequential histomorphometric changes in cancellous bone from ovariohysterectomized dogs. *J Bone Miner Res* 1990; 5: 947-953.
- [9] Carter DR and Hayes WC: The compressive behaviour of bone as a two-phase porous material. *J Bone Joint Surg* 1977; 59A: 954-962.
- [10] Carter DR, Hayes WC, and Schurman DJ: Fatigue life of compact bone. II. Effect of microstructure and density. *J Biomech* 1976; 9: 211-218.
- [11] Cayen MN and Dvornik D: Effect of diosgenin on lipid metabolism in rats. *J Lipid Res* 1979; 20: 162-174.
- [12] Channon LD and Ballinger SE: Some aspects of sexuality and vaginal symptoms during menopause and their relation to anxiety and depression. *Br J Med Psychol* 1986; 59(Pt 2): 173-180.
- [13] Lin HC, Hung JP, Wu JSS, and Chen JH: Bone frame mineral density is correlated positively with volume fraction in cortical bone. *Comput Meth Prog Bio* 2005. (Submitted)
- [14] Chen H, Wang C, Chang CT, and Wang T: Effects of Taiwanese yam (*Dioscorea japonica* Thunb var. *pseudojaponica* Yamamoto) on upper gut function and lipid metabolism in Balb/c mice. *Nutrition* 2003; 19: 646-651.

- [15] Compston JE, Cooper C, and Kanis JA: Bone densitometry in clinical practice. *BMJ* 1995; 310: 1507-1510.
- [16] Cummings SR, Black DM, and Nevitt MC: Bone density at various sites for prediction of hip fractures: the study of osteoporotic fractures. *Lancet* 1993; 341: 72-75.
- [17] Cummings SR, Nevitt MC, and Browner WS: Risk factors for hip fracture in white women. *N Engl J Med* 1995; 332: 767-773.
- [18] Currey JD: The effect of strain rate, reconstruction and mineral content on some mechanical properties of bovine bone. *J Biomech* 1975; 8: 81-86.
- [19] Currey JD: The effect of porosity and mineral content on the Young's modulus of elasticity of compact bone. *J Biomech* 1988; 21(2): 131-139.
- [20] Curry JD, Brear K, and Zioupos P: The effect of ageing and changes in mineral content in degrading the toughness of human femora. *J Biomech* 1996; 29: 257-260.
- [21] Courtney AC, Wachtel EF, Myers ER, and Hayes WC: Age-related reductions in the strength of the femur tested in a fall-loading configuration. *J Bone Joint Surg* 1995; 77A: 387-395.
- [22] Dickenson RP, Hutton WC, and Stott JRR: The mechanical properties of bone in osteoporosis. *J Bone Joint Surg* 1981; 63B: 233-238.
- [23] Farombi EO, Nwankwo JO, and Emerole GO: Possible modulatory effect of browned yam flour diet on chemically-induced toxicity in the rat. *Food Chem Toxicol* 1997; 35: 975-979.
- [24] Hernandez CJ, Beaupre GS, Keller TS, and Carter DR: The influence of bone volume fraction and ash fraction on bone strength and modulus. *Bone* 2001; 29: 74-78.
- [25] Higdon K, Scott A, and Tucci M: The use of estrogen, DHEA, and Diosgenin in a sustained delivery setting as a novel treatment approach for osteoporosis in the ovariectomized adult rat model. *Biomed Sci Instrum* 2001; 37: 281-286.
- [26] Jerome CP, Kimmel DB, McAlister JA, and Weaver DS: Effects of ovariectomy on iliac trabecular bone in baboons. *Calcif Tissue Int* 1986; 39: 206-208.
- [27] Katase K, Kato T, Hirai Y, Hasumi K, and Chen JT: Effects of ipriflavone on bone loss following a bilateral ovariectomy and menopause: a randomized placebo-controlled study. *Calcif Tissue Int* 2001; 69: 73-77.
- [28] Kelmanson JE, Jager AK, and van Staden J: Zulu medicinal plants with antibacterial activity. *J Ethnopharmacol* 2000; 69: 241-246.
- [29] Kilgus DJ, Shimaoka EE, Tipton JS, and Eberle RW: Dual-energy x-ray absorptiometry measurement of bone mineral density around porous-coated cementless femoral implants. *J Bone Joint Surg* 1993; 75B: 279-287.
- [30] Lauritzen JP, Schwarz P, Lund B, McNair P, and Transbol I: Changing incidence and residual lifetime of common osteoporosis-related fractures. *Osteoporos Int* 1993; 3:

127-132.

- [31] Legrand E, Chappard D, Pascaretti C, Duquenne M, Krebs S, Rohmer V, Basle MF, and Audran M: Trabecular bone microarchitecture, bone mineral density, and vertebral fractures in male osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 13-19.
- [32] Lill CA, Gerlach UV, Eckhardt C, Goldhahn J, and Schneider E: Bone changes due to glucocorticoid application in an ovariectomized animal model for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int* 2002; 13: 407-414.
- [33] Lin HC, Hung JP, Wu JSS, and Chen JH: Effects of bone mineral fraction and volume fraction on mechanical properties of cortical bone. *J Med Biol Engng* 2005. (Revised)
- [34] Lundeen GA, Knecht SL, Vajda EG, Bloebaum RD, and Hofmann AA: The contribution of cortical and cancellous bone to dual-energy X-ray absorptiometry measurements in the female proximal femur. *Osteoporos Int* 2001; 12: 192-198.
- [35] Marker RE and Sterols CV: The preparation of testosterone and related compounds from sarsasapogenin and diosgenin. *J Am Chem Soc* 1940; 62: 2543-2547.
- [36] Marker RE, Turner DL, Ulshafer PR, and Sterols CIV: Diosgenin from certain American plants. *J Am Chem Soc* 1940; 62: 2542-2543.
- [37] Marker RE, Wagner RB, Ulshafer PR, Wittbecker EL, Sterols CLVII, and Sapogenins LXIX: Isolation and structures of thirteen new steroidal sapogenins. New sources for known sapogenins. *J Am Chem Soc* 1943; 65: 1199-1209.
- [38] Martin RB: Determinants of the mechanical properties of bone. *J Biomech* 1991; 24: 79-88.
- [39] Min K, Munarriz R, Kim NN, Goldstein I, and Traish A: Effects of ovariectomy and estrogen and androgen treatment on sildenafil-mediated changes in female genital blood flow and vaginal lubrication in the animal model. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 1370-1376.
- [40] Mirsky EC and Einhorn TA: Current concepts review. Bone densitometry in orthopaedic practice. *J Bone Joint Surg* 1998; 80A: 1687-1698.
- [41] Moreno J and Forriol F: Effects of preservation on the mechanical strength and chemical composition of cortical bone: an experimental study in sheep femora. *Biomat* 2002; 23: 2615-2619.
- [42] Newman E, Turner AS, and Wark JD: The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models. *Bone* 1995; 16: 277-248.
- [43] Omonigho SE, and Ikenebomech MJ: Effect of temperature treatment on the chemical composition of pounded white yam during storage. *Food Chem* 2000; 71: 215-220.
- [44] Parry BL, Meliska CJ, and Martinez LF: Menopause: neuroendocrine changes and hormone replacement therapy. *J Am Med Womens Assoc* 2004; 59: 135-145.
- [45] Pattijn V, Van Cleynenbreugel T, Vander Sloten J, Van Audekercke R, Van der Perre G,

- and Wevers M: Structural and radiological parameters for the nondestructive characterization of trabecular bone. *Ann Biomed Eng* 2001; 29(12): 1064-1073.
- [46] Pearce J, Hawton K, and Blake F: Psychological and sexual symptoms associated with the menopause and the effects of hormone replacement therapy. *Br J Psychiatry* 1995; 167: 163-173.
- [47] Rosenkranz G, Djerassi C, Yashin R, and Pataki J: Cortical hormones from allsteroids; synthesis of cortisone from Reichstein's compound D. *Nature* 1951; 168: 28.
- [48] Sagsoz N, Oguzturk O, Bayram M, and Kamaci M: Anxiety and depression before and after the menopause. *Arch Gynecol Obstet* 2001; 264: 199-202.
- [49] Sartoris D, Sommer F, Marcus R, and Madvig P: Bone mineral density in the femoral neck: quantitative assessment using dual energy projection radiography. *AJR* 1985; 144: 605-611.
- [50] Schaffler MB and Burr DB: Stiffness of compact bone: Effects of porosity and density. *J Biomech* 1988; 21: 13-16.
- [51] Schriefer JL, Robling AG, Warden SJ, Fournier AJ, Mason JJ, and Turner CH: A comparison of mechanical properties derived from multiple skeletal sites in mice. *J Biomech* 2005; 38: 467-475.
- [52] Scott A, Higdon K, and Benghuzzi H: TCPL drug delivery system: the effects of synthetic DHEA and Diosgenin using an ovariectomized rat model. *Biomed Sci Instrum* 2000; 36: 171-176.
- [53] Skedros JG, Bloebaum RD, Mason MW, and Bramble DM: Analysis of a tension/compression skeletal system: possible strain-specific differences in the hierarchical organization of bone. *Anat Rec* 1994; 239: 396-404.
- [54] Taylor M: Psychological consequences of surgical menopause. *J Reprod Med* 2001; 46: 317-324.
- [55] Toyras J, Kroger H, and Jurvelin JS: Bone properties as estimated by mineral density, ultrasound attenuation, and velocity. *Bone* 1999; 25(6): 725-731.
- [56] Undie AS and Akubue PI: Pharmacological evaluation of *Dioscorea dumetorum* tuber used in traditional antidiabetic therapy. *J Ethnopharmacol* 1986; 15: 133-144.
- [57] Wang X and Ni Q: Determination of cortical bone porosity and pore size distribution using a low field pulsed NMR approach. *J Orthop Res* 2003; 21: 312-319.
- [58] Wachter NJ, Augat P, Hoellen IP, Krischak GD, M. Sarkar MR, Mentzel M, Kinzl L, and Claes L: Predictive value of Singh index and bone mineral density measured by quantitative computed tomography in determining the local cancellous bone quality of the proximal femur. *Clin Biomech* 2001; 16(3): 257-262.
- [59] Wachter NJ, Augat P, Krischak GD, Mentzel M, Kinzl L, and Claes L: Prediction of cortical bone porosity in vitro by microcomputed tomography. *Calcif Tissue Int* 2001;

- 68(1): 38-42.
- [60] Wachter NJ, Augat P, Krischak GD, Sarkar MR, Mentzel M, Kinzl L, and Claes L: Prediction of strength of cortical bone in vitro by microcomputed tomography. *Clin Biomech* 2001; 16(3): 252-256.
- [61] Wachter N J, Krischak GD, and Mentzel M: Correlation of bone mineral density with strength and microstructural parameters of cortical bone in vitro. *Bone* 2002; 31(1): 90-95.
- [62] Wall JC, Chatterji SK, and Jeffery JW: Age-related changes in bone density and tensile strength of human femoral cortical bone. *Calcif Tissue Int* 1979; 27: 105-108.
- [63] Wang XD: Changes in the fracture toughness of bone may not be reflected in its mineral density, porosity, and tensile properties. *Bone* 1998; 23(1): 67-72.
- [64] Wang AL, Huang MT, Tseng T, Wu SY, Su CC, Lee YT, Iong SM, Tai SY, Chen YF, Wang YW, Hsu WY, Wang CF, Ho YJ: Effects of Dioscorea on the anxiety behavior in the ovariectomized Wistar rats. The 1st Taipei Medical University Neuroscience Symposium. 2004.
- [65] Wronski TJ, Schenk PA, Cintron M, and Walsh CC: Effect of bodyweight on osteopenia in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 1987; 40: 155-159.
- [66] Yeni YN, Brown CU, and Norman TL: Influence of bone composition and apparent density on fracture toughness of the human femur and tibia. *Bone* 1998; 22: 79-84.
- [67] Yin J, Kouda K, Tezuka Y, Tran QL, Miyahara T, Chen YJ, and Kadota S: Steroidal glycosides from the rhizomes of Dioscorea spongiosa. *J Nat Prod* 2003; 66: 646-650.
- [68] Yin J, Tezuka Y, Kouda K, Tran QL, Miyahara T, Chen Y, and Kadota S: In vivo antiosteoporotic activity of a fraction of Dioscorea spongiosa and its constituent, 22-O-methylprotodioscin. *Planta Med* 2004; 70: 220-226.
- [69] Yin J, Tezuka Y, Kouda K, Tran QL, Miyahara T, Chen Y, and Kadota S: Antiosteoporotic activity of the water extract of Dioscorea spongiosa. *Biol Pharm Bull* 2004; 27: 583-586.
- [70] Zou L, Bloebaum RD, and Bachus KN: Reproducibility of techniques using Archimedes' principle in measuring cancellous bone volume. *Med Eng Phys* 1997; 19(1): 63-68.
- [71] 何弘能，陳信孚，月經與內分泌，台北市正中書局，民國八十二年。
- [72] 徐慶琳，山藥粉之特性及產品開發之研究，食品科學系，國立嘉義大學，嘉義市，民國九十二年。
- [73] 陳詩詩，以免疫調節及細胞再生觀點探討山藥生物活性之研究，國立陽明大學生物藥學研究所碩士論文，民國九十年。
- [74] 黃慧娟，山藥生物活性之研究，國立陽明大學生物藥學研究所碩士論文，民國九十二年。

- [75] 張珍田, 山藥的種類與保健功能, 靜宜食營簡訊. 13 (2001) 2-7.
- [76] 曾慶瀛, 余哲仁, 王璧娟, 劉新裕, In 國立嘉義大學食品科學系, 農委會農業試驗所 (Eds.), 台灣保健食品學會第一屆年會.
- [77] 楊登傑, 台灣產山藥的類固醇皂素及皂配基分析與加工處理對皂素之影響, 食品科技學系, 國立台灣大學, 台北市, 民國九十二年.
- [78] 廖俊旺, 王順成, 劉新裕, 黃振聲, 山藥冷凍乾燥粉對大鼠28天餵飼之安全性評估, 植物保護學會會刊. 44 (2002) 88.
- [79] 劉新裕, 王昭月, 宋麗梅, 本省山藥之研究, 中醫藥雜誌, 1995; 6: 111。
- [80] 盧訓, 山藥之營養價值及其加工用途介紹, 食品資訊, 民國九十年, 第六十八至七十一頁。