

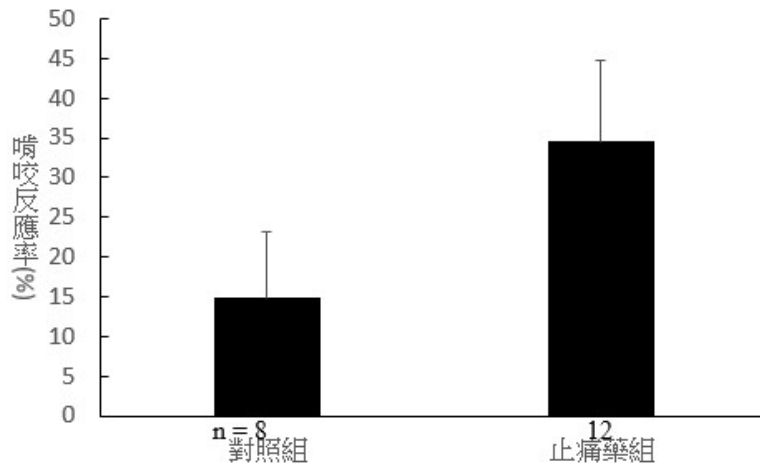
認識身旁的小傢伙(27)－以誘發自噬行為 與熱刺激探討蟑螂步足之痛覺受體(下)

陳奕嫻 蔡任圃*

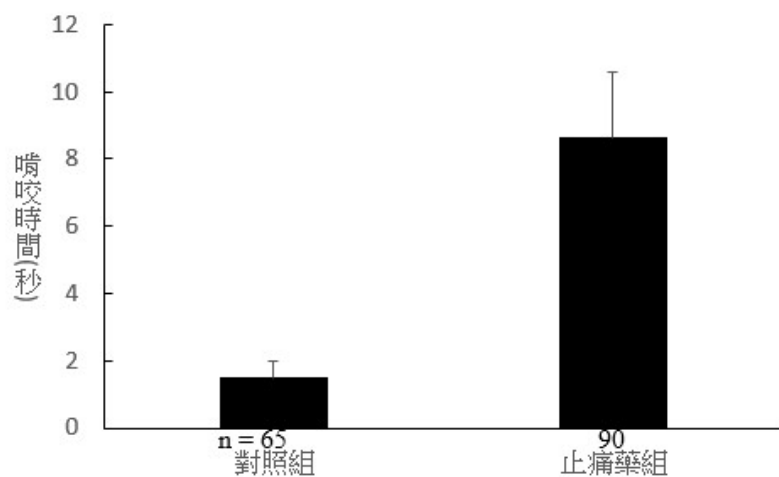
臺北市立第一女子高級中學

三、乙醯胺酚對誘發自噬行為的效應

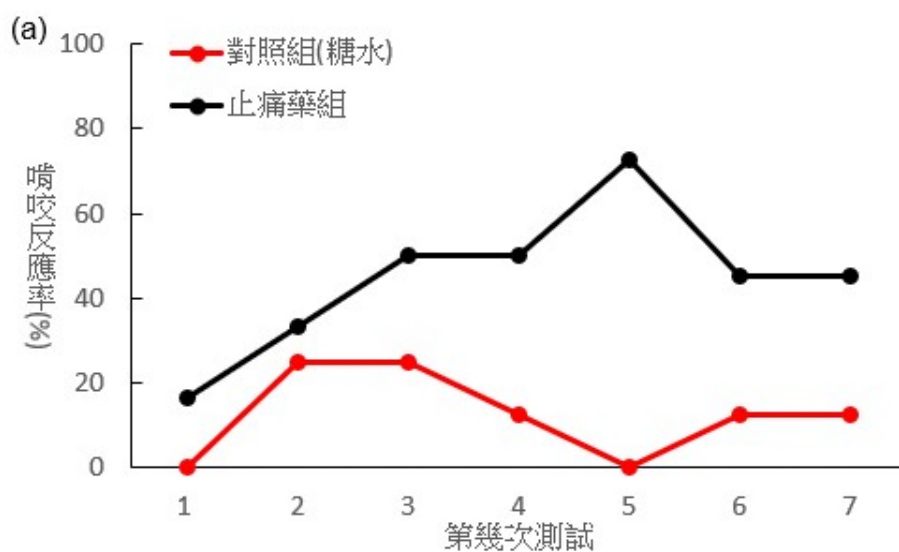
餵食乙醯胺酚的蟑螂，對中足腿節之誘發自噬行為的啃咬率增加(圖十五)，也增加啃咬時間(圖十六)，顯示乙醯胺酚發揮止痛的效果，增加誘發自噬行為的程度。若分析單一誘發自噬行為的表現，比較第 1 至第 7 次的啃咬反應率與啃咬時間，發現餵食乙醯胺酚後，啃咬反應率圖十七(a)與啃咬時間圖十七(b)皆逐漸增加，代表在止痛藥效發揮後，在經過幾次自噬行為的嘗試，隨後會增加啃咬中足腿節的意願。

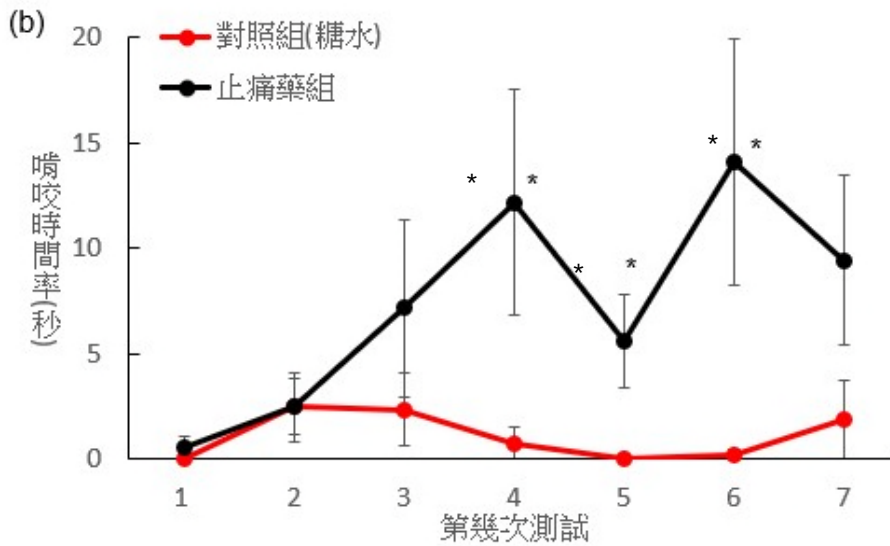


圖十五：乙醯胺酚後對中足腿節啃咬反應率的效應(平均 $\pm$ 標準誤， n = 取樣個體數)。
卡方檢定， $p = 0.005$ (單尾 t 檢定， $p = 0.094$)



圖十六：乙醯胺酚後對中足腿節啃咬時間的效應(平均 $\pm$ 標準誤， n = 取樣數)。
單尾 t 檢定， $p = 0.00033$



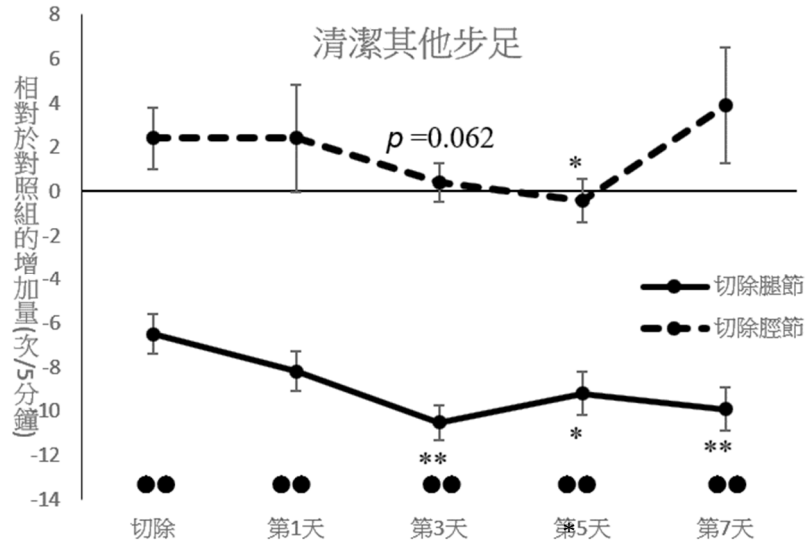


圖十七：乙醯胺酚對中足腿節(a)啃咬反應率與(b)啃咬時間的效應(平均 ± 標準誤，取樣數如圖 14、15)。

與對照組相比(單尾 t 檢定)：*： $p < 0.05$ 。

四、中足截肢後於溫熱介質上的行為發生頻率

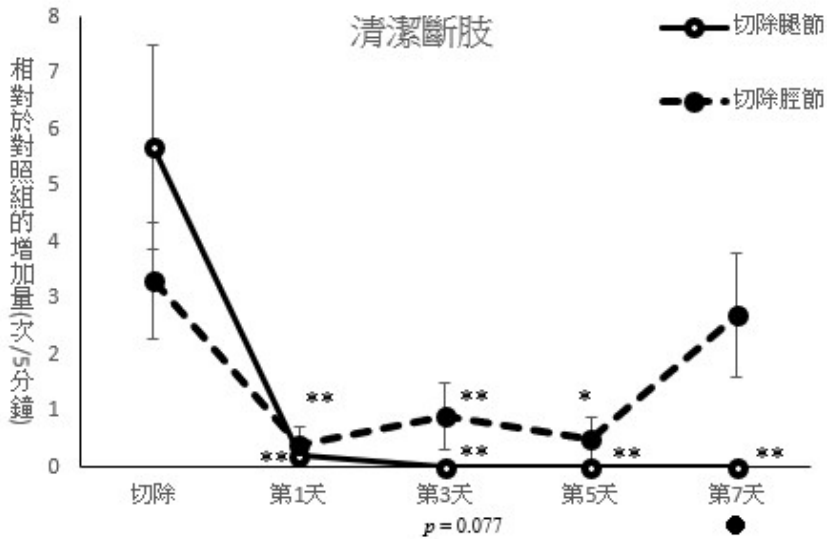
中足截肢後，切除脛節的「清潔其他步足」行為增加程度，多於切除腿節組，代表切除脛節增加清潔其他步足的行為，切除腿節反而減少。且這樣的趨勢在節肢後七天內皆為如此(圖十八)。切除腿節或脛節都增加「清潔斷肢」的行為，但一天後就恢復頻率了，第七天切除腿節組「清潔斷肢」的行為又再度增加(圖十九)。切除脛節都會引發「清潔觸角」的行為增加，但切除腿節組則無(圖二十)。切除脛節都會引發「其他步足舉起」的行為增加，但隨後就減少了，切除腿節組的「其他步足舉起」行為在截肢後七天內皆為減少的狀態。切除腿節與脛節都會引發「斷肢舉起」的行為增加，但隨後就減少了。切除腿節會引發「身體抖動」的行為增加，而切除脛節會引發「身體抖動」的行為增加。且在截肢後七天內皆維持這樣的狀態(圖二十一)。切除腿節與脛節皆會引發「身體抖動」的行為增加，但在截肢後第三天，切除腿節組的「身體抖動」行為增加，同時切除脛節組減少，使得兩組之間出現差異(圖二十二)。



圖十八：切除中足腿節或脛節後，相對於對照組(切除前)在溫水上表現「清潔其他步足」的行為頻率的變化量(平均 $\pm$ 標準誤，各為 10 隻)。

與切除時比較：*： $p < 0.05$ 、**： $p < 0.01$ (單尾配對 t 檢定)

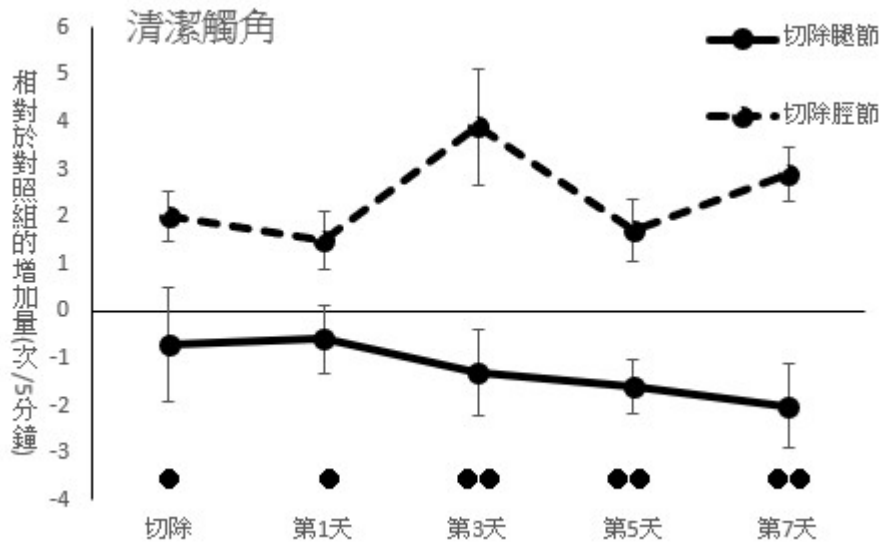
切除腿節與切除脛節組比較：●： $p < 0.05$ 、●●： $p < 0.01$ (單尾 t 檢定)



圖十九：比較切除中足腿節或脛節後，相對於對照組(切除前)在溫水上表現「清潔斷肢」的行為頻率的變化量(平均 $\pm$ 標準誤，各為 10 隻)。

與切除時比較：*： $p < 0.05$ 、**： $p < 0.01$ (單尾配對 t 檢定)

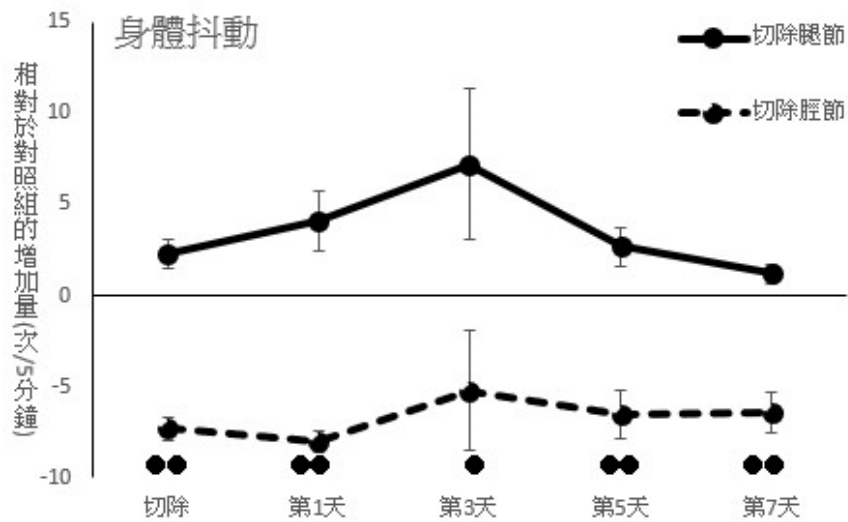
切除腿節與切除脛節組比較：●： $p < 0.05$ (單尾 t 檢定)



圖二十：比較切除中足腿節或脛節後，相對於對照組(切除前)在溫水上表現「清潔觸角」的行為頻率的增加量(平均 ± 標準誤，各為 10 隻)。

與切除時比較：皆未達統計顯著差異(單尾配對 t 檢定)

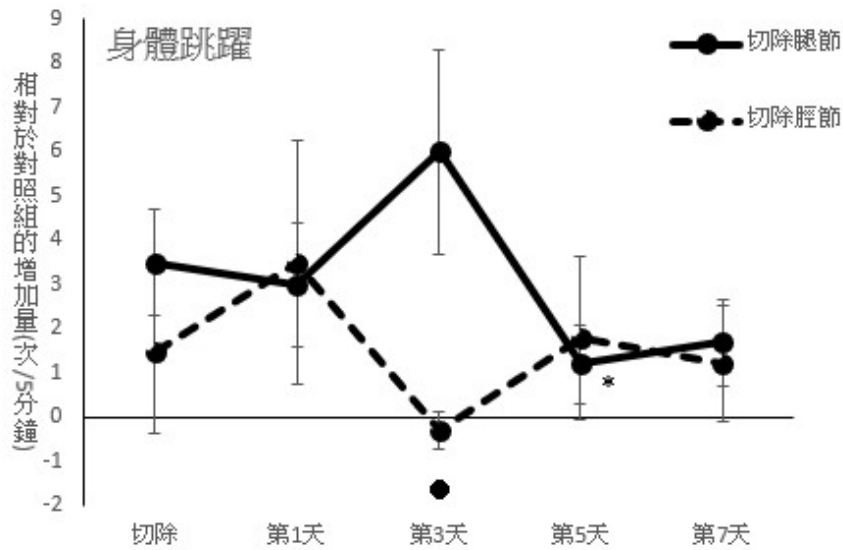
切除腿節與切除脛節組比較：•： $p < 0.05$ 、••： $p < 0.01$ (單尾 t 檢定)



圖二十一：比較切除中足腿節或脛節後，相對於對照組(切除前)在溫水上表現「身體抖動」的行為頻率 (平均 ± 標準誤，各為 10 隻)。

與切除時比較：皆未達統計顯著差異(單尾配對 t 檢定)

切除腿節與切除脛節組比較：•： $p < 0.05$ 、••： $p < 0.01$ (單尾 t 檢定)



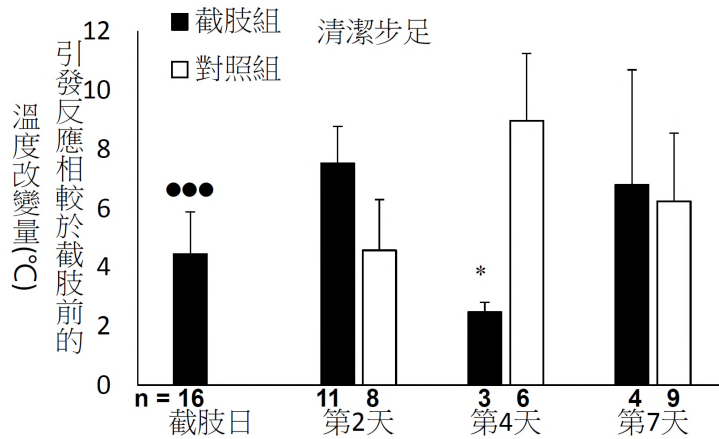
圖二十二：比較切除中足腿節或脛節後，相對於對照組(切除前)在溫水上表現「身體跳躍」的行為頻率(平均 $\pm$ 標準誤，各為 10 隻)。

與切除時比較：*： $p < 0.05$ (單尾配對 t 檢定)

切除腿節與切除脛節組比較：●： $p < 0.05$ (單尾 t 檢定)

五、中足截肢後於逐漸升高溫度的介質上，引發行為所需的溫度改變量比較

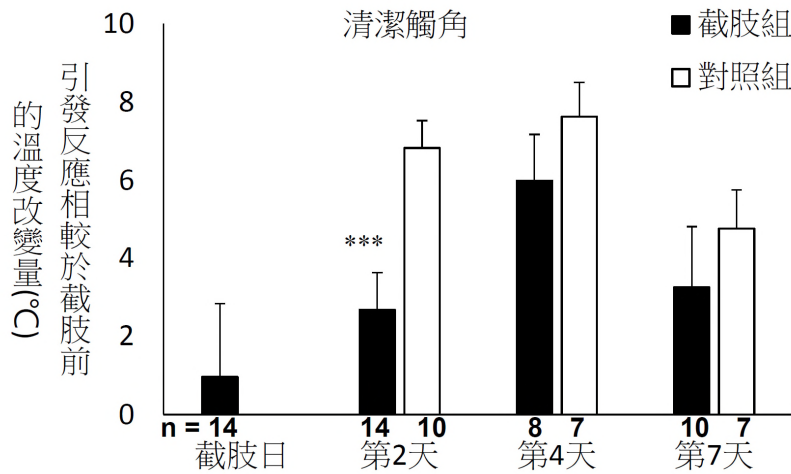
中足截肢後，在第 4 天時，清潔步足的行為對溫度的改變比未截肢時更為敏感(溫度增加的幅度小於對照組即引發行為反應)(圖二十三)。在第 2 天時，清潔觸角的行為對溫度的改變比未截肢時更為敏感(溫度增加的幅度小於對照組即引發行為反應)(圖二十四)。步足舉起的行為對溫度的改變與未截肢沒有明顯差異。在第 2、4 天時，蟑螂執行較大動作的行為(身體抖動)動機下降(溫度增加的幅度需大於對照組，才引發行為反應)(圖二十五)。在第 2、4 天時，蟑螂執行較大動作的行為(身體跳躍)動機下降(溫度增加的幅度需大於對照組，才引發行為反應)(圖二十六)。



圖二十三：相較於截肢前(第 0 天)的溫度增加量，溫度增加而可引發「清潔步足」的溫度增加幅度(°C，平均 ± 標準誤，截肢組為 30 隻，對照組為 20 隻，n = 收集到的資料筆數)。

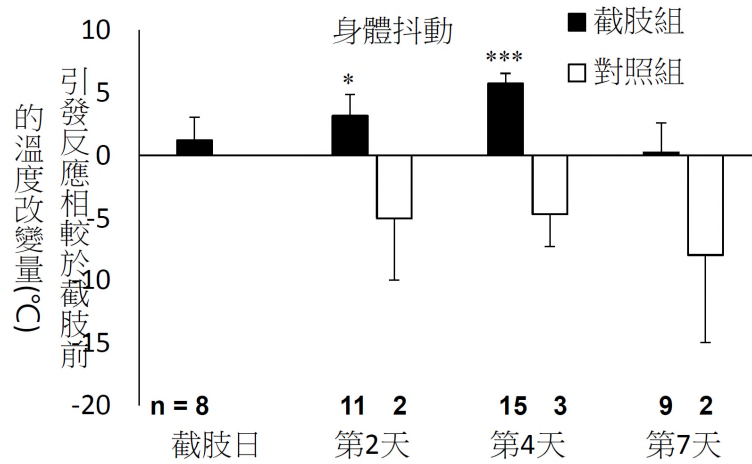
與對照組相比：*： $p < 0.05$ (單尾配對 t 檢定)

與 0 相比：***： $p < 0.005$ (單尾 z 檢定)



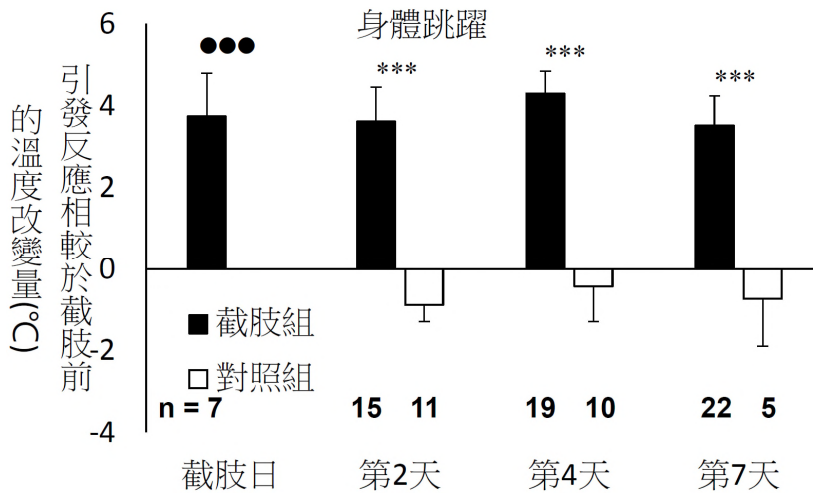
圖二十四：相較於截肢前(第 0 天)的溫度增加量，溫度增加而可引發「清潔觸角」的溫度增加幅度(°C，平均 ± 標準誤，截肢組為 30 隻，對照組為 20 隻，n = 收集到的資料筆數)。

與對照組相比：***： $p < 0.005$ (單尾配對 t 檢定)



圖二十五：相較於截肢前(第 0 天)的溫度增加量，溫度增加而可引發「身體抖動」的溫度增加幅度(°C，平均 ± 標準誤，截肢組為 30 隻，對照組為 20 隻，n = 收集到的資料筆數)。

與對照組相比：*： $p < 0.05$ ；***： $p < 0.005$ (單尾配對 t 檢定)



圖二十六：相較於截肢前(第 0 天)的溫度增加量，溫度增加而可引發「身體跳躍」的溫度增加幅度(°C，平均 ± 標準誤，截肢組為 30 隻，對照組為 20 隻，n = 收集到的資料筆數)。

與對照組相比：***： $p < 0.005$ (單尾配對 t 檢定)

與 0 相比：●●●： $p < 0.005$ (單尾 z 檢定)

肆、討論

本研究建立以誘發自噬行為(induced self-cannibalism)的動物模式，記錄前與中足之腿節、脛節與跗節引發自體啃咬的反應率與時間，以探討痛覺受體分布的可能位置。建立步足截肢蟑螂置於溫熱(42°C)介質的急性與慢性行為反應。行為指標包含清潔其他步足、清潔斷肢、清潔觸角、其他步足舉起、斷肢舉起、身體抖動以及身體跳躍等行為。本研究結果發現誘發自噬行為中，啃咬中足腿節的反應率僅有約四成，遠低於前、中足的其他各節，具「抑制造成身體損傷」性質，且在止痛藥劑處理後，增加啃咬中足腿節的反應率與時間，代表誘發性自噬行為的抑制現象應是由痛覺所引起的。中足截肢後的蟑螂給予熱刺激時，產生「遠離可能造成身體損傷之刺激源」的行為；腿節截肢的個體產生身體抖動與身體跳躍等行為增強的現象，也表現出持續性或晚發性，顯示蟑螂步足具急性與慢性疼痛的感覺。此外，在溫度漸增的實驗發現中腳截肢的個體，展現「敏感化」與「行為動機下降」等行為表現。

國際疼痛研究協會分類學小組委員會(International Association for the Study of Pain, IASP, 1979)於 1979 年將「疼痛」定義為：因實際或潛在的組織損傷，或因對傷害的陳述，所引發之相關的不愉快的感覺和情緒體驗(An unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage, or described in terms of such damage)。且疼痛是主觀的，可隨著個體的身體狀態和的精神狀態而變化(Merskey, 1991)。依據這個定義，因無法測量昆蟲的情緒反應，所以常以「負向的感覺」作為研究指標，而以「抑制造成身體損傷之行為」或促進「遠離可能造成身體損傷的刺激源」研究昆蟲痛覺時，作為行為量化的指標。

本研究發現蟑螂自體啃咬前足中的腿節、脛節與跗節，各啃咬反應率皆超過九成，但中足腿節僅有約四成，這可解釋成啃咬中足的腿節，產生「抑制造成身體損傷之行為」，也就是避免或停止啃咬。比較各步足之腿節、脛節與跗節的啃咬時間，發現前足腿節與中足脛節具有連體與離體間的差異，代表具有一定程度的感覺輸入，使誘發自噬行為的時間縮短。

在操作的過程中，發現部分個體會產生自發自噬行為，例如：自發地舉起前足並將腿節咬斷(圖 3)，這樣的現象只發生於前足，而中足不但沒有發生過，甚至會產生阻擋的動作(圖 4)。實驗數據證實：中足較無法產生誘導自噬行為。這代表中足可產生明顯的痛覺而前足則無。也許在蟑螂的前足在六足運動過程的功能最為微弱，在飢餓時透過啃食前足的自噬行為，暫時度過逆境，就像是細胞的自噬作用一樣，可回收胞內的大分子或胞器。

若對前足產生自噬行為的個體具有演化優勢，也許可以解釋前腳步足表現較弱之痛覺反應的現象；同樣的機制也可解釋為何較易受損或被自我啃咬的脛節與跗節，其痛覺反應較腿節微弱。

在蟑螂食入乙醯胺酚後，造成原本對中足腿節的誘發自噬行為的抑制現象減弱，這代表昆蟲產生痛覺的機制，可能類似脊椎動物的痛覺致敏(sensitization)機制，透過前列腺素之作用，參與痛覺的產生，有待進一步的研究。

本研究另以記錄步足截肢蟑螂置於溫熱(42°C)介質的急性與慢性行為反應，探討昆蟲的痛覺性質。我們將所記錄的各項行為指標結果整理成表 1，發現中足截肢後的蟑螂，無論是腿節還是脛節截肢皆會立即增加對斷肢的清潔行為，此行為與許多哺乳類動物的急性疼痛類似，例如：動物感到疼痛時，可能舔舐、咬、抓傷、搖晃或摩擦疼痛部位等行為(Morton and Griffiths, 1985)，但隔一天後清潔斷肢行為的增強現象就消失了。類似的現象也出現在熱刺激時引發舉起斷肢的行為，隔一天後，斷肢舉起行為的增強現象就消失。清潔斷肢與舉起斷肢的行為反應，應該為急性疼痛的指標。

另一方面，在身體抖動與跳躍兩項行為指標中，腿節截肢的個體皆在熱刺激時產生增強的現象。除急性反應外，也表現出持續性或晚發性的表現，後者應該為慢性疼痛的指標。

表 1：探討溫熱刺激對各項行為指標的急性與慢性反應。

行為指標		清潔 其他步足	清潔斷肢	清潔觸角	其他步足 舉起	斷肢舉起	身體抖動	身體跳躍
截肢	脛節	—	↑	↑	—	↑	↓	↑
	腿節	↓	↑	—	—	↑	↑	↑
急性 (立即)		○	○	○脛	—	○	○	○
慢性	持續	○	—	○脛	—	—	○	—
	晚發	—	○脛	—	—	—	—	○腿

(↑代表增加，↓代表減少，—代表不變，○代表腿節與脛節皆具有該性質，○腿代表腿節具有該性質，○脛代表脛節具有該性質)

本研究在溫度增加的情況下，觀察蟑螂截肢前後對溫度敏感度的差異(表 2)。我們發現不需消耗太多力氣的小動作如清潔行為，在截肢後有敏感化的現象。動物會因為自身的限制或周圍的環境控制而有正面或負面的運動動機，促使或抑制其運動行為(Kirkden and

Pajor, 2006)，在本研究中身體抖動、跳躍等大動作在溫度升高時蟑螂做出這些行為的動機下降，這些皆符合痛覺的行為反應特徵。

利用熱刺激引發的行為反應，此為屬於促進「遠離可能造成身體損傷的刺激源」的行為為量化指標。本研究分別透過以產生「抑制造成身體損傷之行為」、促進「遠離可能造成身體損傷的刺激源」、「敏感化」與「行為動機下降」等指標，證明蟑螂的步足應具急性與慢性疼痛的感覺。

表 2：探討截肢後的蟑螂，對各項行為指標的是否引發敏感化的比較。

行為指標	對溫度敏感性的改變	改變的時間
清潔步足	敏感化	第 4 天
清潔觸角	敏感化	第 2 天
步足舉起	—	—
身體抖動	遲鈍化	第 2-4 天
身體跳躍	遲鈍化	第 2-7 天

伍、參考資料

- Abbracchio, M. P. and Angelo, M. R. 2013. 'Pain & Nociception.' *Neurosciences – From Molecule to Behaviour: A University Textbook*. Eds. C.G. Galizia and P.M. Lledo. Heidelberg: Springer-Verlag, 445-457.
- Adamo, S. 2019. Is it pain if it does not hurt? On the unlikelihood of insect pain. *Can. Entomol.* 151(6): 685-695.
- Baral, P., Udit, S. and Chiu, I. M. 2019. Pain and immunity: implications for host defence. *Nat. Rev. Immunol.* 19(7): 433-447.
- Eisemann, C. H., Jorgensen, W. K., Merritt, D. J., Rice, M. J., Cribb, B. W., Webb, P. D. and Zalucki, M. P. 1984. Do insects feel pain? — *A biological view. Experientia.* 40: 164-167.
- Khuong, T. M., Wang, Q. P., Manion, J., Oyston, L. J., Lau, M. T., Towler, H., Lin, Y. Q. and Neely, G. G. 2019. Nerve injury drives a heightened state of vigilance and neuropathic sensitization in *Drosophila*. *Sci. Adv.* 5(7): eaaw4099.
- Kidd, B. L. and Urban, L. A. 2001. Mechanisms of inflammatory pain. *Br. J. Anaesth.* 87(1): 3-11.
- Kirkden, R. D. and Pajor, E. A. 2006. Using preference, motivation and aversion tests to ask scientific questions about animals' feelings. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 100(1-2): 29-47.
- Merskey, H. 1991. The definition of pain. *Eur. Psychiatry.* 6(4): 153-159.
- Morton, D. B. and Griffiths, P. H. 1985. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Vet Rec.* 116(16): 431-436.
- Ohashi, N. and Kohno, T. 2020. Analgesic Effect of Acetaminophen: A Review of Known and Novel Mechanisms of Action. *Front. Pharmacol.* 11: 580289.
- Taber, S. W. 2005. *Invertebrates Of Central Texas Wetlands*. Texas Tech University Press.

- Tiffin, H. 2016. Do Insects Feel Pain? *Anim. Stud. J.* 5(1): 80-96.
- Tracey, W. D., Jr, Wilson, R. I., Laurent, G. and Benzer, S., 2003. painless, a *Drosophila* gene essential for nociception. *Cell*. 113(2): 261-273.
- Yarali, A., Niewalda, T., Chen, Y. C., Tanimoto, H., Duerrnagel, S. and Gerber, B. 2008. 'Pain relief' learning in fruit flies. *Anim. Behav.* 76(4): 1173-1185.
- Zabala, N. A. and Gómez, M. A. 1991. Morphine analgesia, tolerance and addiction in the cricket *Pteronemobius* sp. (Orthoptera, Insecta). *Pharmacol. Biochem. Behav.* 40(4): 887-891.
- 蔡任圃，2021。2021 諾貝爾生理或醫學獎－發現溫度與觸覺的受體。生物搜查線(龍騰文化)。第 27 期，2-7。

【完】