

建立呼吸毒理研究平台 探討細懸浮微粒毒性

文·圖／鄭尊仁

1952年冬天倫敦大霧空氣污染事件造成至少4千人死亡，同一時期美國也有類似空氣污染問題，之後歐美採取一連串管制行動，空氣污染物大幅下降，類似倫敦嚴重事件即未再現，直到…

從空氣污染流行病學研究到呼吸毒理學研究

1990年代，許多流行病學研究發現微粒空氣污染會引起急性及慢性的健康效應，包括死亡，急診及住院等。其中相關性最高的是呼吸道疾病，以及心血管疾病^[1]，微粒從呼吸道進入肺部，經由巨噬細胞造成發炎反應及後續變化，而流行病學研究是人群觀察研究，對於微粒如何造成心血管疾病，其因果關係和毒理機制並不清楚，所以有必要透過實驗室設計來釐清。

微粒汙染與心血管疾病因果關係的建立，對後來微粒空氣品質標準的建立及修正提供了很好的證據。通常研討微粒毒性，可將大氣微粒收集在濾紙，然後製備成懸浮溶液，注入老鼠呼吸道，觀察毒性反應。但這樣比較不符合生理狀況，最好能用呼吸方式，不過以呼吸方式進行暴露，必須建立呼吸暴露平台，在儀器、人力技術及空間等方面需求較大。

建立細懸浮微粒暴露系統探討急性心血管毒性

我們引進了大氣微粒濃縮器，並加以改進適應臺灣氣候，建立動物暴露平台。簡單來說，引進外面大氣空氣每分鐘約100公升，經由特殊設計，每分鐘抽掉90公升空氣，而微粒留在剩下的10公升空氣，如此可將微粒濃度濃縮10倍，在較高濃度下，可在短時間觀察到毒性，這樣比較適合進行動物實驗（圖1）。

首先觀察微粒暴露是否改變心跳血壓及心臟自主神經反應，很幸運有機會取得無線循環生理檢測儀器，可以將感測器植入老鼠體內，在動物清醒時候，經由無線收



圖1：微粒濃縮器可引進大氣，將微粒濃度濃縮十倍，進行呼吸毒理實驗。

集血壓及心電圖等訊號，於電腦做進一步處理，再做統計分析。我們與中研院統計所黃景祥研究員合作，處理數目龐大的資料，抽絲剝繭理出頭緒，發現當動物暴露在微粒空氣，血壓心跳和反應心臟自主神經變化的心率變異性都會改變，而且在不同地方及季節進行實驗，都有類似結果，而且變異跟成份有關。這些結果支持流行病學研究的發現。印象深刻的是，計畫開始時因為實驗室無線監測儀器數目較少，所以思考精進研究設計，發展重複暴露，自我比較控制變數的實驗設計，可以減少動物隻數，最後發表於環境健康領域頂尖期刊《環境健康展望》(Environmental Health Perspectives)^[2]，這篇有關微粒心跳血壓的方法學文章，只使用三隻老鼠，在有限經費下，如何使用比較精緻有效率的研究設計及方法，達到研究目標，並使用較少動物，本研究提供一個有趣的模式。

沙塵暴微粒毒性

從2000年左右起，來自中國的沙塵暴變得比較頻繁，不僅對韓國、日本造成困擾，經常也會傳到臺灣。而此與當時的流行病學研究結果並不一致，我們團隊便利用這個暴露平台，探討沙塵暴微粒的毒性效應。經由空氣品質測站嚴密追蹤沙塵暴路徑，在夜晚將老鼠移入暴露腔，很幸運捕捉到高暴露時期。研究結果顯示^[3]，沙塵暴時期的肺部發炎反應

比較嚴重，周邊血液白血球數目上升，發炎反應細胞激素上升，都有濃度反應關係，同時我們也觀察到心跳及血壓上升。利用動物實驗研究結果，證實沙塵暴對健康的影響，事實上，後來流行病學研究也得到類似結果。

建立慢性細懸浮微粒暴露平台探討系統性毒性

在急性健康效應上取得有趣的結果，我們面臨慢性暴露的挑戰。進行慢性暴露需要長期維護微粒濃縮器，同時每天將老鼠移入及移出暴露腔，需要相當人力經費。2005年紐約大學發表一篇重要論文^[4]，利用apoE基因剔除老鼠暴露濃縮微粒六個月，發現微粒暴露組有明顯動脈粥狀硬化，他們在郊外實驗室進行實驗，需要較高濃縮濃度，但是每天只暴露

五小時，每星期只暴露五天，平均濃度遠低於目前臺灣微粒空氣濃度。我們改裝動物飼養籠，直接引進外面空氣進入，一半的飼養籠入口有高效率微粒過濾網，另一半則沒有，可以比較大氣微粒毒性，優點是動物可以24小時連續暴露，減少許多人力，經過測試，雖然有部分微粒損失，但是都是粗粒徑微粒，細粒徑部分的損失也可以接受，而且暴露腔微粒成分與外面細懸浮微粒成份一致。利用這個細懸浮微粒暴露平台（圖2），我們進行三個月動物實驗^[5]，發現高血糖老鼠的週邊血液發炎及氧化壓力指標上升，還有纖維蛋白原升



圖2：臺北大氣微粒暴露系統（TAPES），改裝動物飼養籠系統，在氣體入口處加裝微粒過濾網，可進行長期暴露，比較有無微粒暴露的毒性。

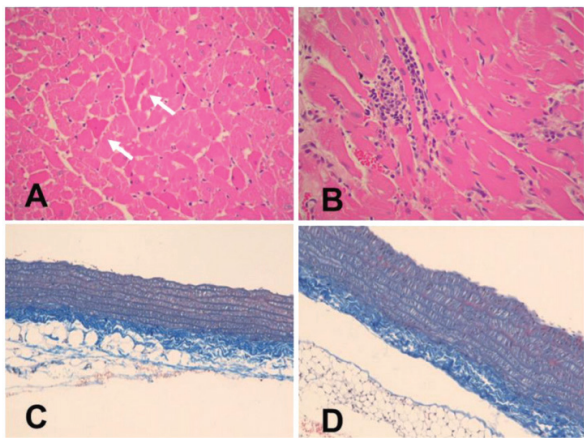


圖3-1：經過三個月大氣微粒暴露，高血糖老鼠（A）沒有微粒暴露，（B）微粒暴露組有心肌發炎，（C）沒有微粒暴露，（D）微粒暴露組的主動脈中膜較厚。

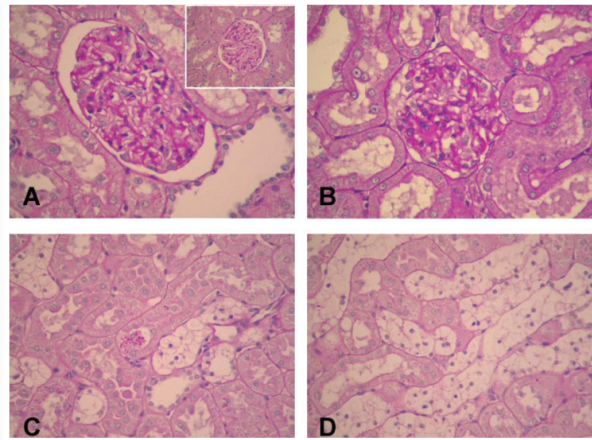


圖3-2：經過三個月大氣微粒暴露，高血糖老鼠（A）沒有微粒暴露，（B）微粒暴露組腎臟腎絲球硬化較嚴重，（C）沒有微粒暴露，（D）微粒暴露組的腎小球病變較嚴重。

高，血糖調控異常，導致標的器官心臟肌肉發炎，動脈管壁增厚，腎臟腎絲球體硬化更加嚴重，還有腎小管病變（圖3）。另外，在健康老鼠也發現暴露微粒後，發炎反應上升，輕微心肌發炎，及胰島素阻抗上升，這些結果，可以支持糖尿病患者是微粒空氣污染的易感族群，另外，微粒除了大血管病變之外，小血管也會受到影響。後來許多研究也發現微粒空氣污染跟蛋白尿及腎絲球過濾下降等腎臟疾病有關。所以毒理實驗與流行病學研究可以互補，互相驗證。

除了心肺疾病，流行病學研究也發現微粒可能對全身許多器官系統產生健康效應，例如中樞神經的發育及退化性疾病，生殖系統及先天性疾病，還有肺癌等，這些微粒有關的毒理機制都可以應用上述平台加以探討。

建立奈米（超細）微粒產生及暴露平台探討微粒特性與毒性

我們的研究也指出微粒成份跟毒性有關，微粒表面吸附許多化學物質，金屬及多環碳氫化合物等與發炎有關，但是微粒本身物理特性，特別是超細微粒的角色值得討論，同一質量濃度下，超細（奈米）微粒的顆粒數目較大，表面積也大，因為與組織反應面積大，活性也大，另外，粒徑小比較容易進入呼吸道深處，甚至進入周邊血液，所以超細微粒可能產生較大毒性。為了探討超細微粒毒性，我們也建立了奈米（超細）微粒的產生及暴露




圖4：奈米微粒產生平台。

平台（圖4），在奈米銀及奈米氧化鋅微粒呼吸暴露研究中，我們發現除了微粒大小及表面積，微粒溶解度也與毒性有關^[6]。所以將來還必須針對大氣微粒物理及化學特性加以研究，才能了解大氣微粒的毒理機制。

呼吸毒理學研究團隊

呼吸毒理學在環境毒物及藥物測試是重要方法學。我們探討大氣微粒毒性，建立呼吸毒理實

驗室，開發呼吸毒理學的微粒產生及暴露平台，成功的證實大氣微粒的心血管疾病毒性機制，集合毒理研究與流行病學研究結果，可以提供微粒空氣品質標準法規制定的科學基礎^[7]。呼吸毒理學是跨領域的科學，除了經費、實驗室空間、暴露及監測儀器設備，還需要氣膠、工程、毒理、行為、分生、影像及統計分析不同領域的人才來合作。感謝公衛學院新大樓闢出獨立空間，支持呼吸毒理動物實驗，詹長權教授協同哈佛大學Spengler教授，爭取環保署細懸浮微粒的研究經費，也感謝紐約大學陳隆紀教授在計畫開始前，協助安排參觀幾家大氣微粒研究呼吸毒理學實驗室，並提供實驗設計及技術幫忙。在儀器方面，感謝王鵬堯教授改進美國南加州大學的微粒濃縮器，能夠在濕氣較重的臺灣使用，以及蕭大智教授及簡弘民博士的奈米微粒產生器，李崇德，周崇光及黃盛修教授在氣膠技術的協助。在資料分析方面，感謝中研院黃景祥研究員協助開發統計方法，將大量的循環系統數據歸納成容易理解的圖表。我們也感謝畢萬邦教授指導血壓及心電圖監測系統的植入，王志生教授的病理判讀，以及陳達夫醫師在神經退化性疾病研究的協助。最後還要感謝許許許許的博士班碩士班研究生及助理等。（本專題策畫／公共衛生學系張靜文教授）

參考文獻：

[1] Dockery DW, Pope CA 3rd, Xu X, Spengler JD, Ware JH, Fay ME, Ferris BG Jr, Speizer FE. An

association between air pollution and mortality in six U.S. cities. *N Engl J Med.* 1993; 329:1753-1759.

- [2] Cheng TJ, Hwang JS, Wang PY, Tsai CF, Chen CY, Lin SH, Chan CC. Effects of concentrated ambient particles on heart rate and blood pressure in pulmonary hypertensive rats. *Environ Health Perspect.* 2003; 111:147-50.
- [3] Lei YC, Chan CC, Wang PY, Lee CT, Cheng TJ. Effects of Asian dust event particles on inflammation markers in peripheral blood and bronchoalveolar lavage in pulmonary hypertensive rats. *Environ Res.* 2004; 95:71-6.
- [4] Sun Q, Wang A, Jin X, Natanzon A, Duquaine D, Brook RD. Long-term Air Pollution Exposure and Acceleration of Atherosclerosis and Vascular Inflammation in an Animal Model. *JAMA.* 2005; 294:3003-3010.
- [5] Yan YH, Chou CKC, Wang JS, Tung CL, Li YR, Lo K, Cheng TJ. Subchronic effects of inhaled ambient particulate matter on glucose homeostasis and target organ damage in a type 1 diabetic rat model. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2014; 281:211-220.
- [6] Ho M, Wu KY, Chein HM, Chen LC, Cheng TJ. Pulmonary toxicity of inhaled nanoscale and fine zinc oxide particles: Mass and surface area as exposure metric. *Inhal Toxicol.* 2011; 23:947-56.
- [7] Brook RD, Franklin B, Cascio W, Hong Y, Howard G, Lipsett M, Luepker R, Mittleman M, Samet J, Smith SC Jr, Tager I; Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. Air pollution and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. *Circulation.* 2004; 109: 2655-2671.



鄭尊仁小檔案

現任公衛學院職業醫學與工業衛生研究所及公衛系教授，也是醫學院環境職業醫學科合聘教授。畢業於臺北醫學大學醫學系，哈佛大學公共衛生學院公共衛生碩士及癌症生物博士，並完成美國內科及預防醫學專科訓練取得專科醫師資格，曾擔任臺大醫院安全衛生室代理主任，臺大環境保護暨職業安全衛生中心職業衛生組組長，職業醫學與工業衛生研究所所長。專長環境職業醫學、分子流行病學及毒理學，研究領域包括氯乙烯勞工世代，空氣汙染，奈米科技健康風險等。曾擔任環境健康展望（*Environmental Health Perspectives*）審查編輯委員及副主編，呼吸毒理（*Inhalation Toxicology*）編輯委員，現任氣膠及空氣品質（*Aerosol and Air Quality Research*）編輯。